

ИЗДАТЕЛЬСТВО
АКАДЕМИИ НАУК СССР

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КОРМОВ, ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ



N_2OH

ME
KOPM

П. Т. ЛЕБЕДЕВ, А. Т. УСОВИЧ

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КОРМОВ, ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Второе, переработанное и дополненное издание

РОССЕЛЬХОЗИЗДАТ
Москва — 1969

В РЕШЕНИЯ
водства про
обеспечен п
рых животных и
продуктивности
ния прочной кор
матизации прои
является органи
Рационализа
зяйственных жи
при углубленной
и большой конц
ет основу для р
маточного пог
профилактики
ва продуктов
Ветеринари
контролю корм
ческие лаборат
нарных участко
торных созданы
исследованиями
ления доброт
ния животных. И
органов и тканей
по улучшению к
Во многих пе
содержание прот
ния, фосфора, ма
каротина в семе

СОДЕРЖАНИЕ

ОБОРУДОВАНИЕ ЛАБОРАТОРИИ	7
Помещения	10
Лабораторное оборудование и посуда	12
Весы и взвешивание	24
Порядок работы в лаборатории	36
РАСТВОРЫ И ИХ ПРИГОТОВЛЕНИЕ	39
Классификация растворов	40
Техника приготовления растворов	43
Приготовление приближенных растворов различных концентраций	46
Приготовление титрованных растворов	57
Установление титра растворов	59
Расчеты и приготовление стандартных растворов	64
Надписи на склянках	65
Кислотно-щелочные индикаторы	67
НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	72
Колориметрический метод анализа	74
Универсальный фотометр ФМ-56	79
Фотоколориметрический метод анализа	85
Электрометрическое определение концентрации водородных ионов (рН)	93
Лабораторный рН-метр ЛПУ-01	99
Пламенная фотометрия	100
Полярографический метод анализа	111
Электрофоретическое определение фракций белков в сыворотке крови животных	139
ЗООГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОРМОВ	149
Отбор средних проб	149
Оценка доброкачественности сена	150
Оценка качества корнеклубнеплодов	153
Оценка зерновых и мучнистых кормов	154
Оценка качества жмыхов и шротов	159
Хранение, консервирование проб кормов и их измельчение	160
Методы определения доброкачественности силоса	162

ВОДА И ЕЕ АНАЛИЗ	248
Отбор проб воды для анализа	249
Физические исследования	249
Качественное испытание воды	252
Количественный анализ воды	254
Методы санитарно-бактериологического исследования воды	269
 БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ	283
Определение кислотно-щелочного равновесия в организме	283
Газометрическое определение щелочного резерва плазмы крови (по Ван-Слайку)	285
Определение щелочного резерва крови (по Неводову)	289
Методика определения щелочного резерва крови (по Неводову), видоизмененная П. Т. Лебедевым и П. В. Ковалевой (СибНИВИ)	290
Методика определения щелочного резерва сыворотки крови	291
Определение гемоглобина в крови животных	291
Определение белка и его фракций в сыворотке крови рефрактометрическим методом	295
Количественное определение нуклеиновых кислот в крови	299
Определение каротина в сыворотке крови	300
Определение витамина А в органах и сыворотке крови	302
Определение витамина С и неорганического фосфора плазмы крови в одной пробирке	306
Определение витамина С в органах	308
Определение витамина Е химическим методом	312
Определение витамина Е при помощи фотометра	313
Химический метод определения витамина В ₂ (рибофлавина) С ₁₇ H ₂₀ O ₆ N ₄ в органах и тканях	315
Определение витамина В ₁₂ в органах и тканях	317
Определение витамина D в рыбьем жире (по И. Н. Гаркиной и В. Н. Букину)	322
Определение никотиновой кислоты	326
Определение сахара в крови (способ Хагедорна и Иенсена)	330
Определение кальция в сыворотке крови, по Де-Ваарду	334
Комплексометрическое определение кальция и магния с трилоном Б методом обратного титрования (в модификации А. Ф. Арсеньева)	335
Определение фосфора в сыворотке крови колориметрическим методом, по Бригсу с изменениями В. Я. Юделовича	342
Фотоколориметрическое определение фосфора в сыворотке крови животных, по Бригсу в модификации А. Т. Усовича	343
Методика определения калия в сыворотке крови (по Крамеру и Тисдалю)	345
Методика колориметрического определения калия в сыворотке крови, других тканях и органических веществах, модифицированная С. И. Вишняковым	347
Определение натрия и калия в сыворотке крови животных методом пламенной фотометрии (по А. Т. Усовичу)	348
Определение железа в сыворотке крови фотометрическим методом	352
Определение микроколичеств селена в биологических материалах	352
 ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЛОКА	357
Взятие и хранение проб молока	357
Определение плотности молока	358
Определение кислотности молока	358
Определение жира в молоке	359
Определение общего количества белка в молоке	359

ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРМОВ 170

Определение первоначальной или натуральной влажности	170
Определение гигроскопической влажности	170
Озоление и определение золы	171
Определение «сырого» жира	173
Определение безазотистых экстрактивных веществ	173
Определение углеводно-лигнинного комплекса	174
Определение сахара в корнеплодах рефрактометрическим методом	178
Определение крахмала (осахаривание диастазой)	179
Определение крахмала в картофеле по удельному весу	181
Определение лигнина и целлюлозы	181
Определение «сырой» клетчатки (по Геннебергу и Штоману)	183
Определение «сырого» протеина и азота	184
Определение общего азота в кормах, органах и тканях животных фотоколориметрическим методом (по А. Т. Усовичу)	188
Определение общего азота полумикрометодом Кьельдаля с применением прибора Парнаса-Вагнера	190
Подготовка пробы для определения фосфора, кальция, магния и хлора	195
Определение фосфора колориметрическим методом	196
Определение фосфора фотоколориметрическим методом (методика Левицкого в модификации А. Т. Усовича)	197
Определение фосфора в кормах, органах и тканях животных фотоколориметрическим методом (по А. Т. Усовичу)	199
Определение кальция объемным методом	201
Определение фосфора, кальция и магния в костях (метод сухого озоления)	202
Определение магния объемным методом	203
Определение хлора (по методу Фольгарда)	204
Определение магния фотоколориметрическим методом с помощью титанового желтого	205
Определение серы (по Бенедикту-Денису)	207
Определение железа в кормах, органах, тканях и сыворотке крови животных фотоколориметрическим методом (по А. Т. Усовичу)	208
Определение микроэлементов в кормах, органах и тканях животных	211
Приготовление шкал из цветных растворов минеральных солей	211
Количественное определение меди по стандартной шкале	215
Приготовление реактивов для определения меди дитизоном	215
Количественное определение цинка по стандартной шкале	216
Приготовление реактивов для определения цинка	216
Количественное определение марганца по стандартной шкале	217
Количественное определение кобальта по стандартной шкале	217
Количественное определение молибдена по стандартной шкале	218
Количественное определение бора по стандартной шкале	219
Определение микроэлементов в кормах, органах и тканях животных	220
Полярографическое определение меди, цинка и марганца в кормах, органах и тканях животных (по А. Т. Усовичу)	224
Определение кобальта в кормах, органах и тканях животных полярографическим методом (по А. Т. Усовичу)	230
Полярографическое определение железа в кормах, органах и тканях животных (по А. Т. Усовичу)	232
Определение каротина в сене и других растительных кормах	234
Производственный метод определения каротина в сене (по Нестеровой)	236
Визуальный метод определения витамина В ₁ в кормах	239
Определение витамина С	241
Определение витамина Е	244

Определение казеина	360
Определение сахара в молоке	361
Определение сухого вещества в молоке	363
Определение минерального состава в молоке	364
Определение кальция и фосфора в молоке	364
Определение хлора в молоке	366
Определение витамина С в молоке	366
Определение кетоновых тел в молоке	367
Определение титруемой кислотности свежесвыдоенного молока (по А. А. Кабышу)	367
Определение каротина в молоке (по Слесаревой)	368
ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЧИ	370
Определение реакции мочи	370
Определение удельного веса мочи	371
Определение общего количества азота в моче (по Кьельдалю)	371
Качественное определение белка и кетоновых тел в моче	372
Определение ацетоновых тел	373
Экспресс-метод определения ацетона в моче	374
Экспресс-метод полуколичественного определения сахара в моче	375
Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) в моче	376
Определение вкрат-кислорода в моче	377
Определение хлора в моче	378
Определение кальция в моче	378
Определение фосфорной кислоты в моче	380
Определение неорганического фосфора в моче	381
ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ СТАТИСТИКИ ПРИ ОБРАБОТКЕ ОПЫТНЫХ ДАННЫХ	382
ПРИЛОЖЕНИЕ	419
Примерный перечень оборудования и реактивов	419
Таблица 1. Зависимость веса и объема воды от температуры	422
Таблица 2. Поправка на температуру в миллилитрах на 1 л воды или водных растворов	422
Таблица 3. Удельные веса водных растворов кислот	423
Таблица 4. Удельные веса водных растворов щелочей	426
Таблица 5. Удельный вес и концентрация этилового спирта	427
Таблица 6. Определение крахмала и сухого вещества в картофеле по удельному весу	428
Таблица 7. Содержание макроэлементов в кормах и добавках различных зон Омской области, по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ в 1963—1966 гг. (средние показатели)	430
Таблица 8. Содержание микроэлементов в кормах и добавках различных зон Омской области, по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ в 1963—1966 гг.	434
Таблица 9. Содержание незаменимых аминокислот в 100 г протеина кормов	438
Таблица 10. Содержание витамина D в кормах и препаратах, UE	441
Таблица 11. Содержание витамина Е в кормах (по Балдиссера-Нардио)	442
Таблица 12. Содержание рибофлавина и никотиновой кислоты в кормах, мг/кг	443
Таблица 13. Содержание аскорбиновой кислоты в кормах, мг/кг	444
Таблица 14. Химический состав молока коров хозяйств различных зон Омской области в различные периоды года	445
Таблица 15. Показатели качественной оценки силоса урожая 1967 г., по данным исследований ветеринарных лабораторий Урала, Сибири и Дальнего Востока	446
Таблица 16. Биохимические показатели сыворотки крови животных и птиц, убитых в сентябре и октябре 1966 г. на Омском и Тарском мясокомбинатах, по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ	448

Таблица 17. Биохимические показатели органов сельскохозяйственных животных, птицы и пушных зверей (в среднем), по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ	449
Таблица 18. Биохимические показатели скорлупы, белка и желтка куриных яиц (по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ)	458
Таблица 19. Биохимические показатели скорлупы, белка и желтка утиных и гусиных яиц (по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ)	459
Таблица 20. Примерные суточные нормы макро- и микроэлементов для сельскохозяйственных животных из расчета на 100 кг веса, рекомендуемые СибНИВИ	460
Таблица 21. Примерные суточные нормы минеральных кормов животным и птицам в граммах на одну голову	461
Таблица 22. Атомные веса некоторых элементов	462
Бланки и талоны экспертизы о результатах химического исследования	463
Литература	470

*Петр Тимофеевич Лебедев
Александр Тарасович Усович*

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КОРМОВ,
ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ**

Редакторы *А. Е. Феферман, Е. М. Ривелис, Н. Л. Тараненко*
Технический редактор *Л. Г. Левина*
Корректор *И. К. Фингерит*

Л37725 Сдано в набор 8/IV 1969 г. Подп. в печать 15/X 1969 г. Объем 29,75 усл. печ. л. 32,6 уч-изд. л. Формат 60×90¹/₁₆. Тираж 14200 Изд. № 674
Заказ 55 Цена 1 р. 08 к. Отпечатано на тип. бум. № 2
Объявлено в т. п. 1969 г. № 30
Россельхозиздат, г. Москва, И-139, Орликов, За.

Калужская областная типография управления по печати облисполкома,
пл. Ленина, 5.

Стр.	Стр.
60	1-я с
74	3-я с
84	23-я
349	25-я 28-я
400	5-я с
400	4-я
Зак. 55.	

Замеченные опечатки

Стр.	Строка	Напечатано	Следует читать
60	1-я снизу	$K_{0,5 \text{ н HCl}} =$	$K_{0,05 \text{ н HCl}} =$
74	3-я сверху	$J_t = J_0 \cdot 10^{\text{сcl}}$	$J_t = J_0 \cdot 10^{\text{сcl}}$
84	23-я сверху	125%-ный раствор H_2SO_4	1,25%-ный раствор H_2SO_4
349	25-я сверху 28-я сверху	60 делений	50 делений
400	5-я снизу	$x_1 = \frac{x_{\text{выск}} - M}{S}$	$\alpha_1 = \frac{x_{\text{выск}} - M}{S}$
400	4-я снизу	(стр. 417)	(стр. 418)

Зак. 55.

раненко

К 1969 г. Объем
4200 Изд. № 674
№ 2

за. полкома,

В РЕШЕНИЯХ XXIII съезда КПСС намечен рост производства продуктов животноводства, который может быть обеспечен путем увеличения поголовья сельскохозяйственных животных и птицы, улучшения их породности, повышения продуктивности на основе углубленной специализации, создания прочной кормовой базы, комплексной механизации и автоматизации производства. При этом одним из важных факторов является организация полноценного кормления животных.

Рационализация кормопроизводства и кормления сельскохозяйственных животных всегда составляла, а тем более сейчас, при углубленной специализации общественного животноводства и большой концентрации на фермах поголовья скота, составляет основу для роста поголовья, в том числе снижения яловости маточного поголовья, совершенствования породных качеств, профилактики заболеваний животных, а также для производства продуктов животноводства и повышения их качества.

Ветеринарные лаборатории СССР успешно ведут работу по контролю кормления животных. В этом им помогают агрохимические лаборатории, зоотехники, ветврачи и фельдшеры ветеринарных участков, колхозов и совхозов. В ветеринарных лабораториях созданы отделы, которые занимаются биохимическими исследованиями кормов, органов и тканей животных для определения доброкачественности кормов и полноценности кормления животных. Результаты лабораторных исследований кормов, органов и тканей животных становятся руководством к действию по улучшению кормления животных.

Во многих передовых хозяйствах корма исследуют также на содержание протеина, важнейших минеральных элементов (кальция, фосфора, магния, натрия, калия), определяют количество каротина в сене и силосе, устанавливают доброкачественность

всех кормовых средств, в частности, производят оценку силоса по некоторым показателям, в том числе по составу органических кислот.

На основании работ, проведенных в Московской ветеринарной академии, Всесоюзном институте экспериментальной ветеринарии, Сибирском научно-исследовательском ветеринарном институте в городе Омске и других научных учреждениях и на кафедрах сельскохозяйственных вузов, были рекомендованы методические приемы оценки доброкачественности кормов и оценки основных показателей полноценности кормления по исследованиям крови, утвержденные главным управлением ветеринарии МСХ СССР.

Большую работу по подготовке ветеринарных врачей для исследования кормов, органов и тканей животных проводят Московская ветеринарная академия, Сибирский научно-исследовательский ветеринарный институт, а в последние годы и некоторые другие научно-исследовательские ветеринарные учреждения.

Сотрудники лаборатории зоогигиены СибНИВИ многолетний опыт и результаты по исследованию кормов, органов и тканей сельскохозяйственных животных, домашних птиц, пушных зверей в различных зонах Омской области на содержание в них макро- и микроэлементов и некоторых витаминов, обобщили в виде брошюры, которая издана в 1968 г. в городе Омске.

На основе накопленного опыта научно-исследовательскими ветеринарными учреждениями, сельскохозяйственными вузами, ветеринарными и агрохимическими лабораториями, ветеринарными специалистами и зоотехниками колхозов и совхозов по контролю качества кормов и состояния обмена веществ у животных установлено, что обследовать корма в хозяйствах необходимо 2 раза в год: 1) до начала зимне-стойлового содержания и 2) во второй его половине, т. е. после 6—7-месячного хранения заготовленных кормов.

Состояние обмена веществ у животных, что характеризует полноценность кормления, необходимо определять по модельным животным стада.

В модельную группу выделяют наиболее типичных животных в количестве: коров, нетелей, телок, телят — по 7—10% их общего поголовья в хозяйстве, овец — 2—3% общего числа маток или ремонтных ярок, свиней — 7—10%, ремонтного молодняка — 5—10%, кобыл — 10%. Быков-производителей и ремонтных бычков, баранов и ремонтных баранчиков, хряков, жеребцов и молодых племенных жеребчиков, а также производителей на станциях искусственного осеменения обследуют поголовно.

Коров лучше исследовать в сентябре-октябре при оптимальном уровне обмена веществ и в предкризисный период состояния обмена — с января по апрель. В это время обязательно нужно

контролировать состояние обмена веществ у коров и нетелей за 2—2,5 месяца до отела.

Для контроля восстановления функции организма в летний период коров желательно обследовать также в конце июня — первой половине июля.

Ремонтный молодняк можно также обследовать дважды — осенью и ранней весной, а телят — в возрасте около 2 и 4—6 месяцев.

Супоросных свиней обычно обследуют на 3—4 месяцах беременности и при кормлении поросят, учитывая напряженность обмена веществ в их организме в этот период.

Овец лучше обследовать осенью перед началом случки или искусственного осеменения и за 1—1,5 месяца до окота.

Племенных кобыл обследуют весной и осенью.

Результаты исследования кормов, органов и тканей животных дают возможность руководителям, зоотехникам и ветврачам осуществлять на научных основах кормопроизводство, кормление животных, в том числе рационально вводить в рационы витамины и микроэлементы, а также предупреждать заболевания животных, возникающие вследствие неполноценного кормления.

Настоящее методическое руководство по анализу кормов, органов и тканей животных, второе, переработанное и дополненное издание, представляет собой сборник основных (зоогигиенического направления) методов лабораторных исследований в ветеринарии. В нем изложены не только методы, давно уже применяемые в ветеринарных лабораториях, но и довольно широко представлены современные физико-химические методы анализа, основанные на последних достижениях физики, электрохимии и радиоэлектроники.

В книге даны основы полярографии, фотоколориметрии, пламенной фотометрии, рН метрии, электрофореза и их применение в биологических исследованиях. Нашел также отражение многолетний опыт работы лаборатории зоогигиены Сибирского научно-исследовательского ветеринарного института по анализу кормов, органов и тканей животных.

Руководство состоит из 10 разделов, в которых освещены вопросы качественной оценки кормов и контроля обмена веществ у животных в целях профилактики заболеваний, вызываемых его нарушением, организация лаборатории, ее оборудование, правила обращения с приборами, отбора проб кормов, органов и тканей животных и их подготовки к анализу. Даны классификация, расчеты и техника приготовления растворов, применяющихся в весовых, объемных и физико-химических определениях, сведения об индикаторах и правила их выбора применительно к конкретному случаю анализа.

Изложены методы зоогигиенической оценки кормов, воды, а также методы определения качества силоса, в том числе и его

кислотного состава, определения белковых веществ, витаминов, макро- и микроэлементов в органах и тканях животных.

Книга предназначена для работников ветеринарных и агрохимических лабораторий, ветеринарных врачей, агрономов, зоотехников и научных работников, занимающихся вопросами исследования кормов, органов и тканей животных в целях улучшения качества производства кормов, рационализации кормления животных и профилактики их заболеваний.

Для правильной оценки результатов исследований кормов, органов и тканей животных, в целях контроля и нормализации состояния обмена веществ, в конце книги приведены справочные таблицы, а также раздел по статистической обработке опытных данных.

Мы будем весьма благодарны всем, кто пришлет нам свои замечания по настоящему руководству в целях дальнейшего совершенствования методов исследования кормов, органов и тканей животных на наличие в них белка, минеральных веществ и витаминов, что является необходимым для диагностики и профилактики заболеваний животных и птиц.

ЛАБО
ткане
или
(1 8-1:1
вентиляция
необходимы
канализа
средохрани
маж жел
мощи ко
Там свет
электрич
Электро
бильники
нагревате
устанавли
Если от
дора.
Для вен
и, а еще
раводом
С летучи
работают т
тяжного шк
ижные пол
ступ внутрь

ОБОРУДОВАНИЕ ЛАБОРАТОРИИ

ЛАБОРАТОРИЯ для исследования проб кормов, органов и тканей животных может быть оборудована в специальном или приспособленном помещении. Хорошая освещенность (1 : 8—1 : 10), умеренная температура (15—18°) и надежная вентиляция обеспечивают условия для работы. В лаборатории необходимы вытяжной шкаф со специальной тягой, водопровод и канализация (слив). В помещении должно быть сухо, чтобы предохранить от порчи оборудование, приборы и реактивы. На окнах желательно иметь плотные закрывающиеся шторы, при помощи которых регулируют освещенность помещения, так как яркий свет изменяет свойства некоторых веществ. Настольные электрические лампы должны быть с абажурами.

Электросеть оборудуется распределительным щитком; рубильники и штепсели предназначаются для переносных ламп и нагревательных приборов; в необходимых местах помещения устанавливаются розетки.

Если отопление печное, то топку устраивают со стороны коридора.

Для вентиляции помещения устраивают фрамуги и форточки, а еще лучше — специальный вентилятор с механическим приводом.

С летучими, пахучими, дымящими и ядовитыми веществами работают только в вытяжном шкафу (рис. 1). Три стенки вытяжного шкафа в верхней половине имеют застекленные рамы, нижние половинки которых поднимаются кверху, открывая доступ внутрь для производства анализов. Шкаф оборудуется вентилятором с мотором мощностью не более 0,4 квт. Установка и условия работы с вентилятором описаны в его техническом паспорте.

Скорость движения воздуха внутри шкафа должна быть не менее 15 см/сек, при открытых дверцах она увеличивается до 20 см/сек. Помещать шкаф лучше у стены, напротив входной двери или форточки, чтобы создать дополнительную вентиляцию всего помещения. Надо, чтобы вытяжной шкаф удалял из лабораторного помещения все газообразные и парообразные отходы химических реакций. Это возможно, если он герметичен и хорошо работает вентилятор.

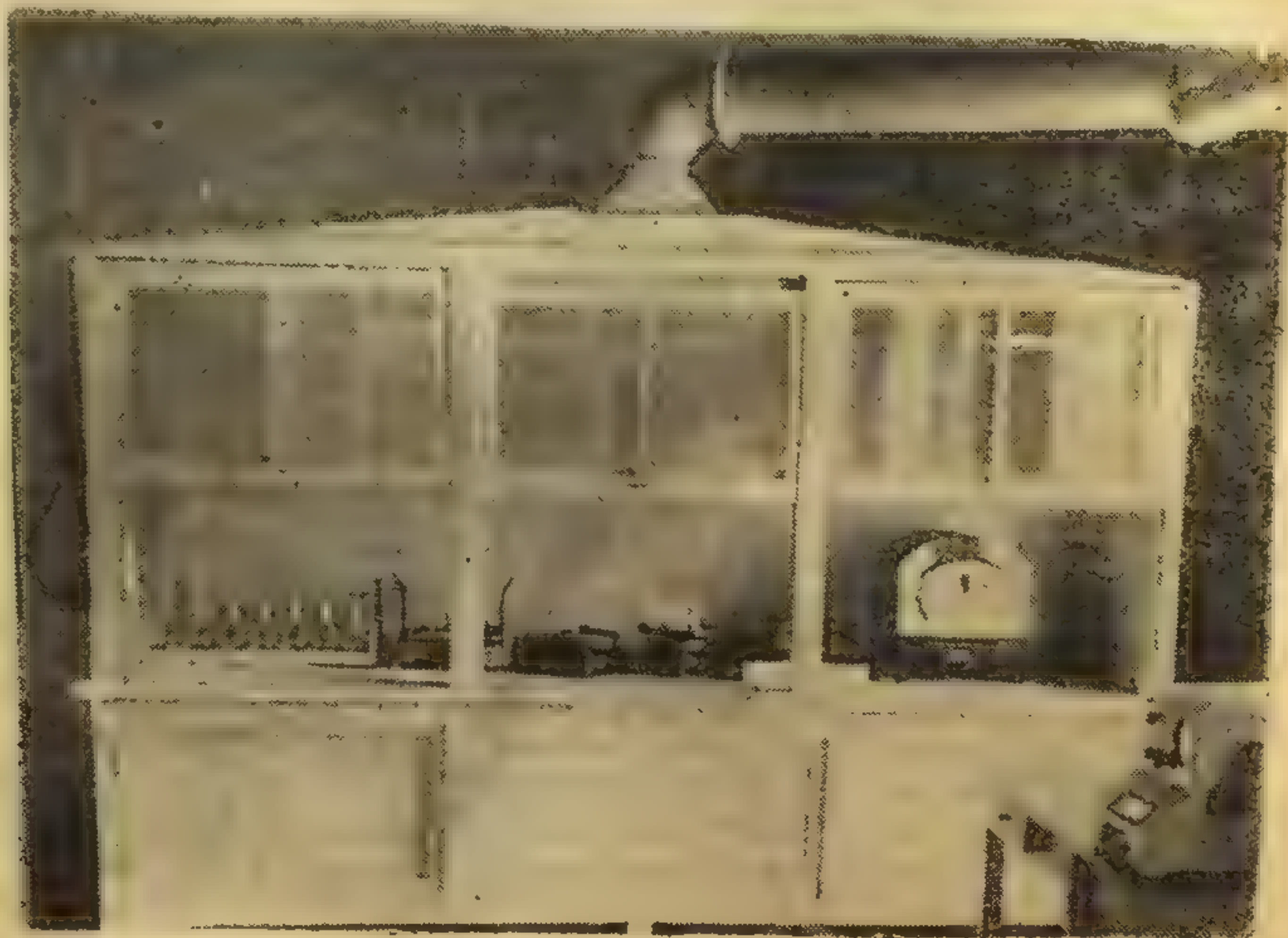


Рис. 1. Вытяжной шкаф

В лаборатории должен быть водопровод с подведенными к каждому рабочему месту водозаборными кранами и раковинами. Лучшими считаются раковины шамотные кремовые или белые. Можно пользоваться и чугунными эмалированными, но они хуже, так как эмаль разъедается реактивами, особенно щелочными, и раковины быстро ржавеют. Под раковиной должен быть сифон, преграждающий газам, образующимся в сточных трубах, путь в помещение.

Около каждой раковины ставится автоматически открывающееся ведро для отбросов. В раковины нельзя выливать растворы с осадками или дурно пахнущие вещества и концентрированные кислоты и щелочи. Особенно нужно следить за тем, чтобы в них не попадала ртуть, так как она быстро разрушает водопроводные трубы. После того, как в раковину вылит какой-либо раствор, ее тут же нужно хорошо промыть водой. Если в раковину случайно вылили раствор кислоты, щелочи, дурно пахнущих веществ, то необходимо пустить струю воды на 5—10 мин.

Водоструйный кран должен находиться выше дна раковины не менее чем на 50 см, чтобы под ним помещалась лабораторная посуда. На кран навинчивается медная насадка, к которой прикрепляются водоструйные насосы и холодильники.

В лаборатории должна быть соответствующая мебель: столы, стулья, шкафы и т. д.

Лабораторный стол (рис. 2) является основным видом мебели, он должен иметь шкафчики и выдвижные ящики. Сбоку у поперечной стенки стола устраивается раковина и подводится вода. Сверху на столе устраиваются полочки, на которые ставятся наиболее ходовые реактивы. Лабораторные столы делают различных размеров. Они бывают односторонние или двусторонние. В первом случае их помещают у стены, во втором — посреди комнаты.

С каждой стороны лабораторный стол может иметь несколько рабочих мест, длина каждого должна быть не менее 1,25 м. Высота стола 0,8—0,9 м, чтобы на нем можно было легко работать стоя или сидя на высоком табурете. Глубина рабочего места 0,4—0,5 м, высота полок на столе — около 0,4 м. Край



Рис. 2. Лабораторный стол

крышки стола не должны свисать над шкафчиками. Это предотвращает повреждение посуды от излишнего боя, который иногда бывает при торопливом вынимании ее из шкафчиков. Окрашивается лабораторный стол масляной краской. Крышка покрывается сверху керамической плиткой, линолеумом или, в крайнем случае, черной матовой краской. Для того чтобы вода из раковины не брызгала на рабочее место, устанавливается защитный фанерный или металлический щит. Во время работы необходимо вы-

полнять такие условия: не загромождать стол ничем ненужным для данной работы, содержать его в образцовой чистоте, такие едкие вещества, как кислоты и щелочи в склянках, ставить на подложенные под них стекла.

Приборы и реактивы должны находиться на столе и его полочках постоянно на своих местах. В ящиках и шкафчиках нельзя хранить посторонние предметы.

В лаборатории должны быть и обычные столы с ящиками. У одной из стен, вблизи окна, на кронштейнах устраивается столик для аналитических весов.

На стене, подальше от входной двери и окон, вешают термометр и барометр. Желательно иметь отдельный столик с набором слесарных инструментов: плоскогубцы, кусачки, тиски, рашпили, напильники, сверла, пробкомаялка и др.

У одной из стен лаборатории помещается титровальный стол длиной 1,5—2 м, шириной 0,5 м и высотой 0,8—0,9 м. Между ножками стола размещаются две полки, куда ставят использованную при титровании посуду. Над столом к стене прибивают на высоте 1 м полку такой же длины и ширины, как и стол. На полку ставят бутылки с наиболее употребительными растворами (рис. 3). Горловины их закрывают пробками с тремя просверленными отверстиями, в одно отверстие вставляется трубочка, которая соединена с верхним отверстием бюретки, через другое проходит трубочка в нижний конец бюретки и через третье отверстие — трубочка, соединенная с хлоркальцевой трубкой.

Шкафы для реактивов и посуды должны быть невысокими, чтобы нужные предметы можно было доставать без лестницы или табуретки. Глубина шкафа не больше 0,4—0,5 м, длина его — 1,5—2 м.

ПОМЕЩЕНИЯ

В лаборатории необходимо иметь помещение, в котором измельчают пробы кормов, органов, тканей животных и устанавливают муфельные печи для сжигания проб, а также моечную и кладовую. В моечную устраивают дверь непосредственно из лаборатории. Раковина для мытья посуды отличается от обычных большими размерами и имеет четырехугольную форму, дно ее плоское, почти горизонтальное. Над раковиной устанавливают металлический зонт, с тем чтобы газы, выделяющиеся из промываемых приборов и посуды, не распространялись по моечной и не проникали в лабораторию. Примерные размеры раковины: длина — 0,7 м, ширина — 0,4, высота — 0,25 м. Зонт над раковиной устраивается возможно ниже, но так, чтобы он не мешал мыть посуду. Сбоку от раковины к стене ставится, или наглухо закрепляется, деревянный щит длиной 0,7—0,8 м и высотой 0,7—0,6 м с косо набитыми на него деревянными зубьями. Угол

наклона зубьев примерно 25° , длина их 10 см. На эти зубья помещают вымытую посуду для просушки. Полотенцем вымытую посуду выгирать нельзя, так как после этого на ней остаются маленькие ворсинки, волокна.

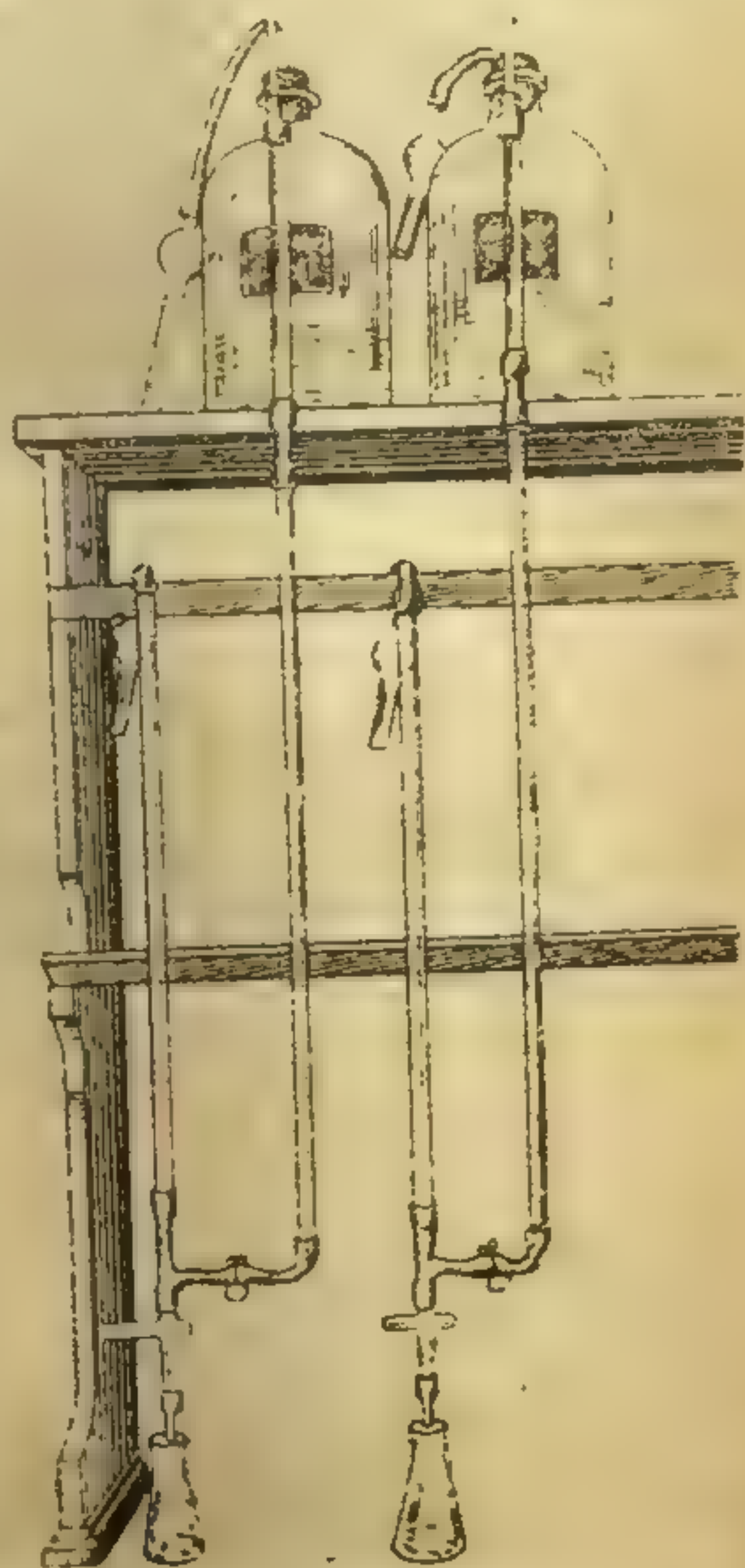
В моечной устанавливается аппарат для получения дистиллированной воды, запас которой необходим для анализов.

В кладовой, вдоль стен, устраивают открытые стеллажи для хранения запасной посуды, аппаратуры и отдельно от них — реактивов. Длина, высота, ширина стеллажей зависят от размеров помещения.

При хранении реактивов необходимо соблюдать следующие правила. Совершенно недопустимо хранить химические вещества без этикеток или надписей с точным названием их или химических формул. Временно допускается надписывать обозначение вещества восковым цветным карандашом на склянке с тем, чтобы в ближайшее время заменить эту надпись этикеткой. Раз в месяц все реактивы просматривают. Если при осмотре обнаружится, что на некоторых склянках этикетки отпали, то их немедленно заменяют новыми. При невозможности определить вещество в склянке без этикетки, его уничтожают. Хранятся химические вещества только в стеклянных банках, обязательно закрытых пробками. Лучше всего, если пробки также стеклянные, притертые или шлифованные. В крайнем случае допустимы корковые или резиновые (для щелочей) пробки. Горловины банок с реактивами, закрытых корковыми пробками, обязательно заливают парафином или воском. Это, в первую очередь, необходимо при хранении пахучих и легко разлагающихся веществ.

Концентрированные кислоты (серная, соляная, азотная), а также щелочи (едкий натр, едкий кали) хранят в специальном помещении, а текущий запас — в нижней части вытяжного шкафа.

Ядовитые вещества: соединения ртути, мышьяка, цианистые и др., а также огнеопасные — фосфор, сероуглерод, бензин, эфир — хранят отдельно от других реактивов. Ядовитые вещества лучше держать в сейфе. Хранить огнеопасные вещества



Р и с. 3. Установка для титрования

в большом количестве, например, несколько баллонов или бутылей с эфиром, бензином и пр., разрешается только в специально оборудованном погребе.

ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И ПОСУДА

В лаборатории используется специальная химическая посуда из стекла и фарфора. Для некоторых работ применяется также кварцевая и платиновая посуда.

Химические стаканы бывают разного объема: наиболее употребительные — емкостью 100, 150, 250 и 500 мм.

Колбы (рис. 4) бывают плоскодонные с узкой и широкой горловиной, конические, круглодонные. Наиболее распространенные

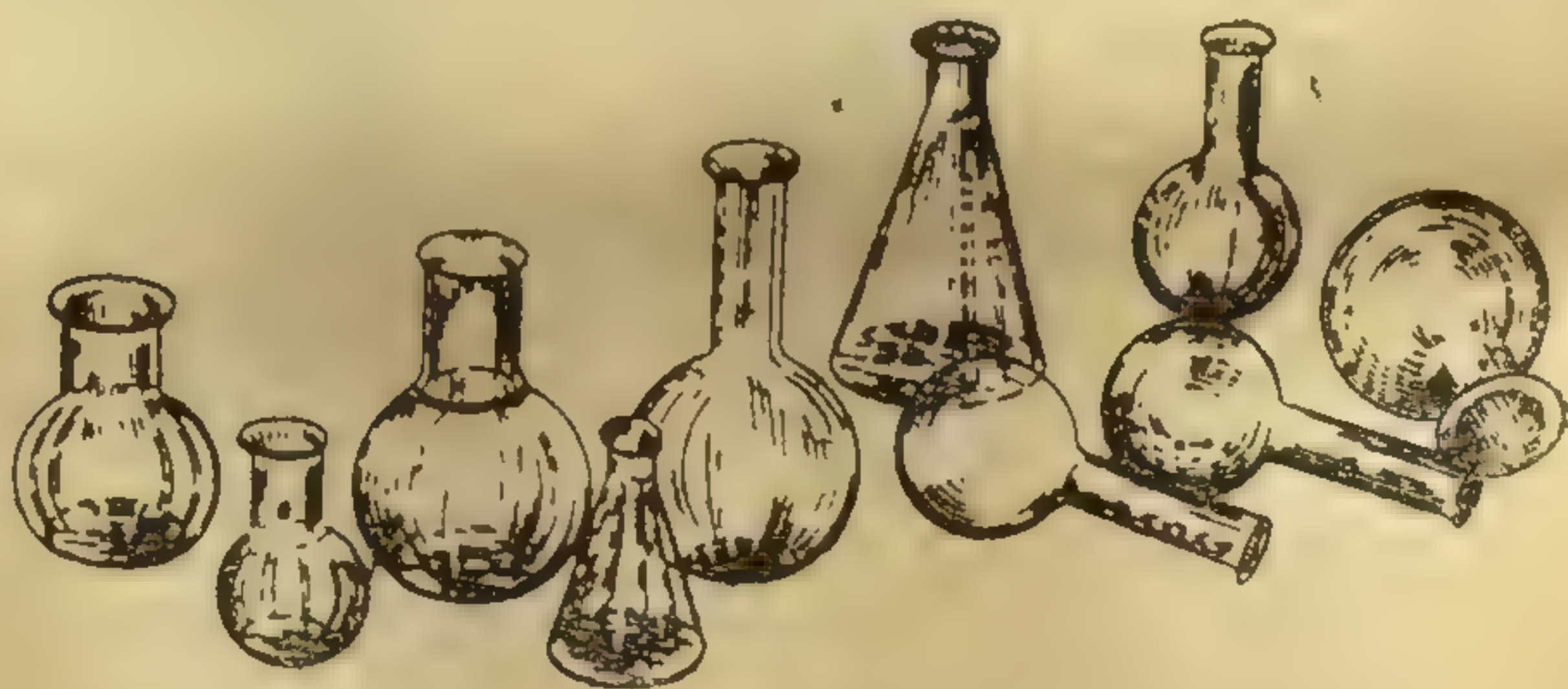


Рис. 4. Колбы плоскодонные, круглые и конические

ны колбы плоскодонные, круглодонные употребляются для работ с нагреванием (на водяной бане или пламени), конические (с носиком и без него) — для титрования и нагревания. Круглодонные колбы с отростком (колба Вюрца) служат для перегонки. Колбы толстостенные с коротким отростком (колба Бунзена) изготавливаются из простого стекла. Употребляются они при фильтровании с разрежением воздуха.

Пробирки бывают различных видов: обычные химические, центрифужные и другие. Их используют для работы с небольшими количествами растворов и сухих веществ. В лаборатории надо всегда иметь достаточный запас чисто вымытых сухих пробирок и хранить в чистых ящиках шкафов или столов.

В лаборатории должны быть различных размеров часовые стекла. Они употребляются для выпаривания небольших количеств жидкостей, взвешивания негигроскопических веществ, прикрывания колб, стаканов и т. п.

Кристаллизаторы изготавливаются из тонкого или обыкновенного стекла.

Чашки Петри состоят из двух низкобортных стеклянных крышечек: верхняя крышечка большего диаметра и покрывает собой нижнюю. Они применяются для посевов различных микробных культур.

Воронки делают из обыкновенного стекла. Употребляются они для фильтрации и переливания жидкостей. Размеры воронок различные. Лучшими считаются те, у которых конус образует с горизонтальной плоскостью угол в 60° . Конечная трубка у воронок обычно срезана наклонно, чтобы улучшить формирование капель фильтрующейся жидкости. Воронки с шариком применяют при фильтрации через стеклянную или гигроскопическую вату. Когда через воронку фильтруют насыщенный раствор, то трубку воронки отрезают под самым конусом.

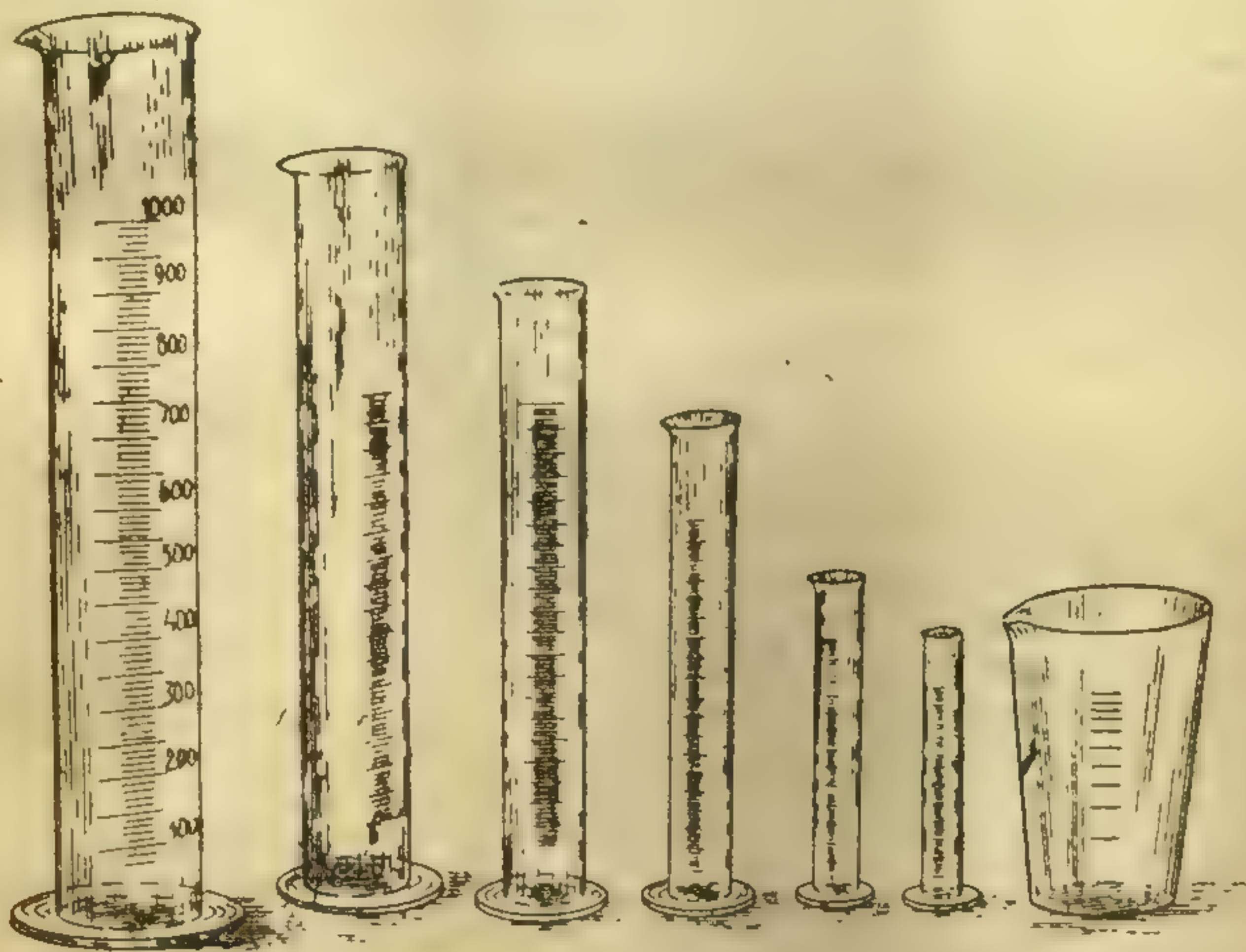


Рис. 5. Цилиндры мерные и мензурки

Делительные воронки бывают различной емкости и формы. Они применяются для разделения двух несмешивающихся жидкостей. Закрыв кран, наливают жидкость в резервуар воронки, затем ее закрывают притертой пробкой, хорошо, но осторожно, встряхивают и дают отстояться до тех пор, пока жидкость не разделится на два слоя. После этого через кран спускают нижний слой в подставленную посуду, а верхний — остается в резервуаре воронки.

Стеклянные цилиндры (рис. 5) — это толстостенные сосуды цилиндрической формы разного размера с пришлифованными крышками или без них. Цилиндры имеют емкость 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 и 1000 мл. Употребляются они для приближенного отмеривания растворов, как и мензурки, представляющие собой конусовидные стеклянные сосуды с делениями. Цилиндры и мензурки не применяют, если необходимо измерить объем раствора для анализа.

Различные банки и склянки применяются для хранения веществ. В банках хранят твердые и сыпучие вещества, в склянках — жидкости. Часто банки и склянки делают с притертыми пробками, что необходимо для веществ, притягивающих к себе влагу (гигроскопичных), например хлористый кальций, медный купорос, серная кислота и т. п. Такая же посуда с притертыми пробками нужна и для веществ стойких (например, солей сернистой кислоты). Нередко притертую пробку заедает, ее трудно вынуть. В таком случае, держа склянку или банку в руке, нужно постучать горлышком ее (недалеко от пробки) по краю стола, вращая при этом склянку; можно слегка нагревать горлышко на пламени спиртовой горелки, также вращая склянку (для равномерного нагрева). Нельзя нагревать склянку или банку с легко летучим или огнеопасным веществом (эфир, бензин, сероуглерод и т. п.). Нужно следить за тем, чтобы на шлифованных поверхностях пробки и горлышка не было налетов веществ. В противном случае пробку, как правило, «заедает».

Склянки и банки иногда делают из оранжевого стекла. В оранжевой посуде хранят нестойкие и светочувствительные вещества. Соединения йода, серебра, крепкую азотную кислоту нужно хранить в посуде из желтого стекла. Если нет такой посуды, склянку (или банку) из прозрачного белого стекла можно зачернить асфальтовым лаком. Перед этим необходимо тщательно отмыть ее снаружи от жирных налетов, а затем просушить.

Бюксы, или стаканчики для точного взвешивания веществ, бывают различной формы и размеров. Они закрываются при шлифованными крышечками. Перед употреблением бюкс тщательно моют, высушивают в сушильном шкафу, охлаждают в эксикаторе, а затем взвешивают вместе с крышечкой. Крышку снимают и помещают обратно только пинцетом.

Капельницы применяются в том случае, когда нужно прибавлять жидкость каплями (например, растворы индикаторов).

Хлоркальциевые трубки служат для очистки и осушки воздуха, проникающего в сосуд. Вымытую и высушенную трубку заряжают так: в нижний, меньший шарик, помещают немного гигроскопической ваты, на него насыпают прокаленный хлористый кальций или натронную известь и сверху опять закрывают небольшим слоем ваты. В U-образные трубки прокаленный хлористый кальций или натронную известь насыпают так, чтобы вещество заполнило немного оба колена трубки. Сверху в то и другое колено кладут гигроскопическую вату.

Холодильники бывают горизонтальные и вертикальные. Они применяются для охлаждения паров при перегонке жидкостей. Наиболее удобен стеклянный холодильник Либиха.

Водоструйные насосы — приборы для разрежения воздуха. На верхний конец насоса надевают каучуковую трубку, другой конец которой присоединяют к водопроводному крану.

Действие основано на том, что вода, вытекающая под давлением из крана, поступает в суженое место насоса и создает в нем разрежение. Прежде чем присоединить водоструйный насос к прибору, нужно проверить его действие. Для этого, пустив воду из крана, прикладывают палец к открытому концу отростка. При хорошем действии насоса палец присасывается к отростку и отрывается от него с усилием. Если нет водопровода, чтобы получить разрежение, можно применять другие насосы, имеющиеся в продаже, например масляный насос Комовского. Описание и инструкция по эксплуатации прилагаются к насосу.

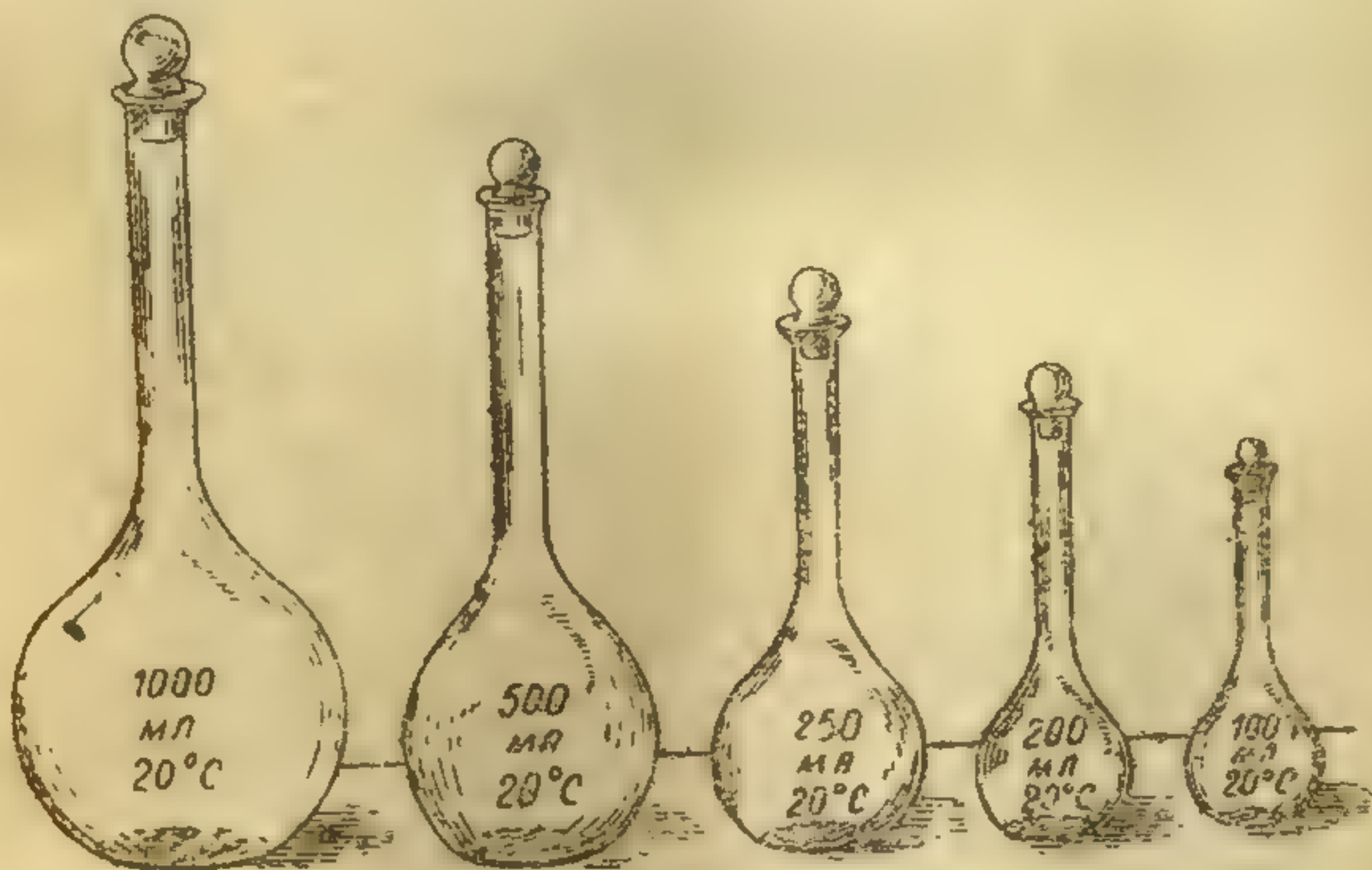


Рис. 6. Колбы мерные

Мерная посуда. Мерные колбы (рис. 6) бывают различной емкости. В верхней части шейки они имеют кольцевую ограничивающую черту. Объем колбы обозначен на стенке. Он выверен при определенной температуре воздуха, обычно при 20° . Колбы нужно наполнять так, чтобы нижний край мениска жидкости пришелся на кольцевую черту горлышка. Закрываются мерные колбы шлифованными пробками.

Бюретка представляет собой длинную (до 1 м) трубку, имеющую в нижнем конусе сужение. На стенках ее нанесены деления, по которым можно отсчитывать объем с точностью до 0,1 мл. Бюретки градуируются на 10, 25, 50 и 100 мл. Они бывают с краном и без крана. Без достаточного навыка легче пользоваться бюретками с краном. Бюретка без крана имеет стеклянную трубочку с оттянутым концом, присоединенную к коней резиновой трубкой, снабженной пружинным зажимом, которым регулируется выпускание раствора из бюретки.

Пипетки (рис. 7, 8), — это трубочки, которые имеют посередине шаровой резервуар. Они бывают емкостью от 1 до 100 мл, которая обозначается на наружной поверхности стенки.

В верхней части пипетки есть кольцевая черта, ограничивающая измеренный объем. Кроме того, имеются пипетки с делениями, позволяющие точно отмеривать нужное количество жидкости.

Надо обращать внимание на то, чтобы мерная черта в верхней части пипетки была нанесена не слишком близко к верхнему концу, иначе при заборе жидкости можно легко засосать ее в рот.

Пипетки изготавливаются и с предохранительным шариком у верхнего конца. Имеются еще, так называемые, микропипетки с делениями в 0,01 мл; они позволяют отмеривать малые количества жидкости.

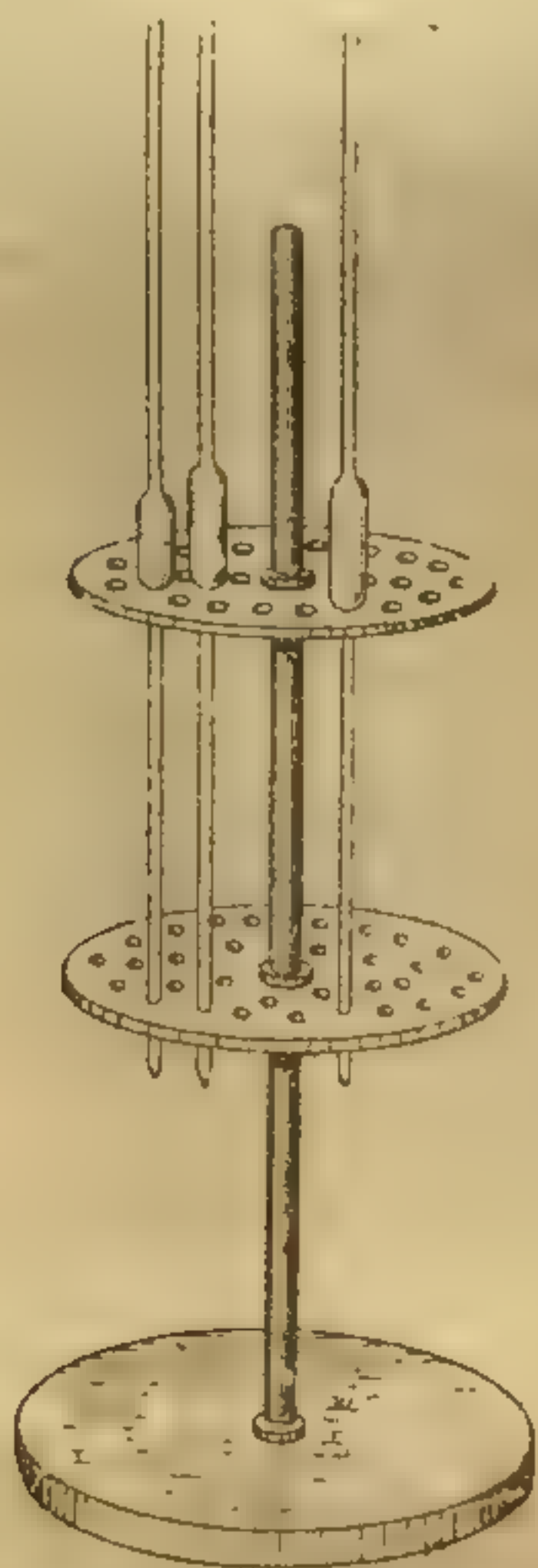


Рис. 7. Штатив с пипетками

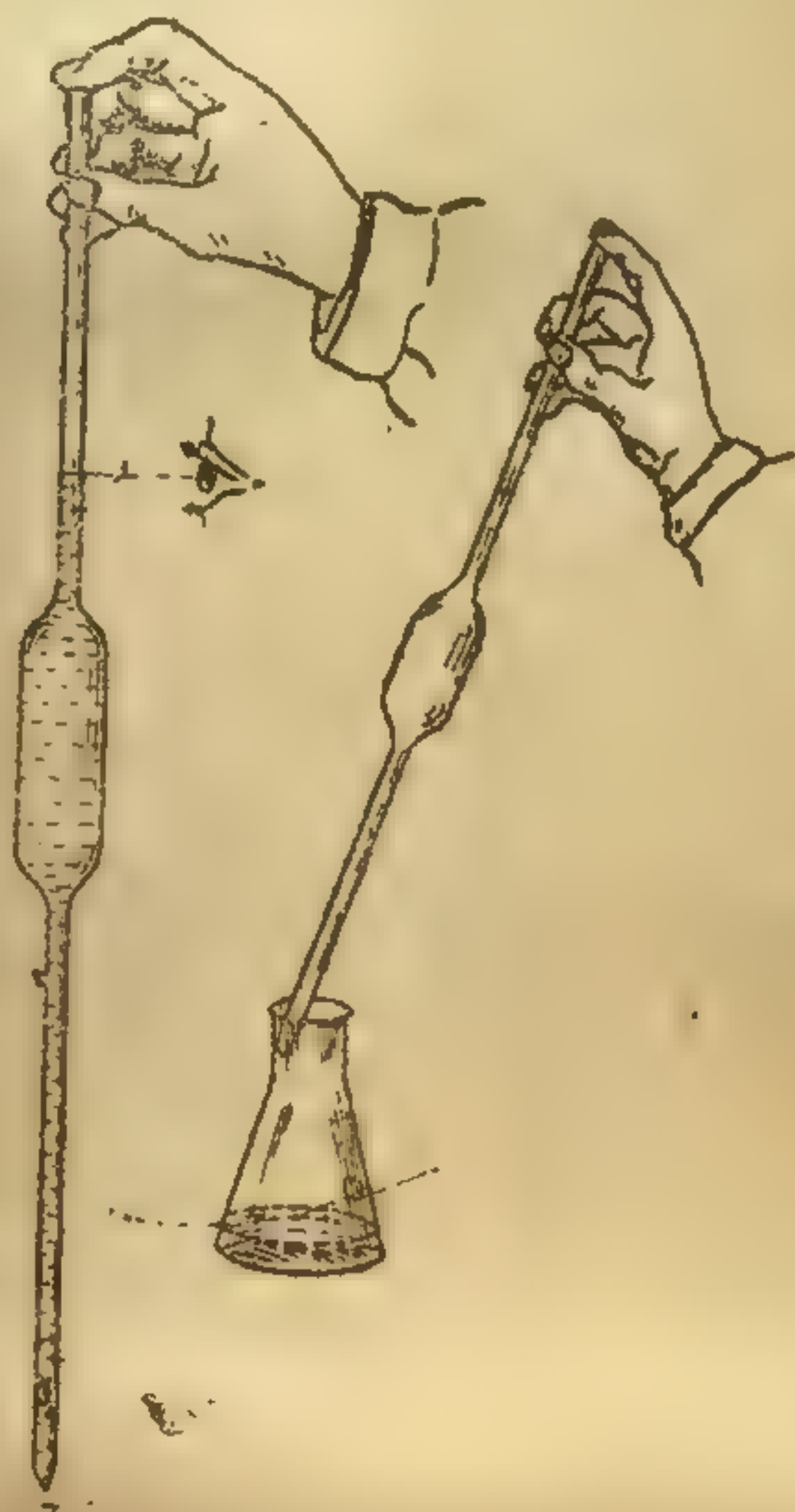
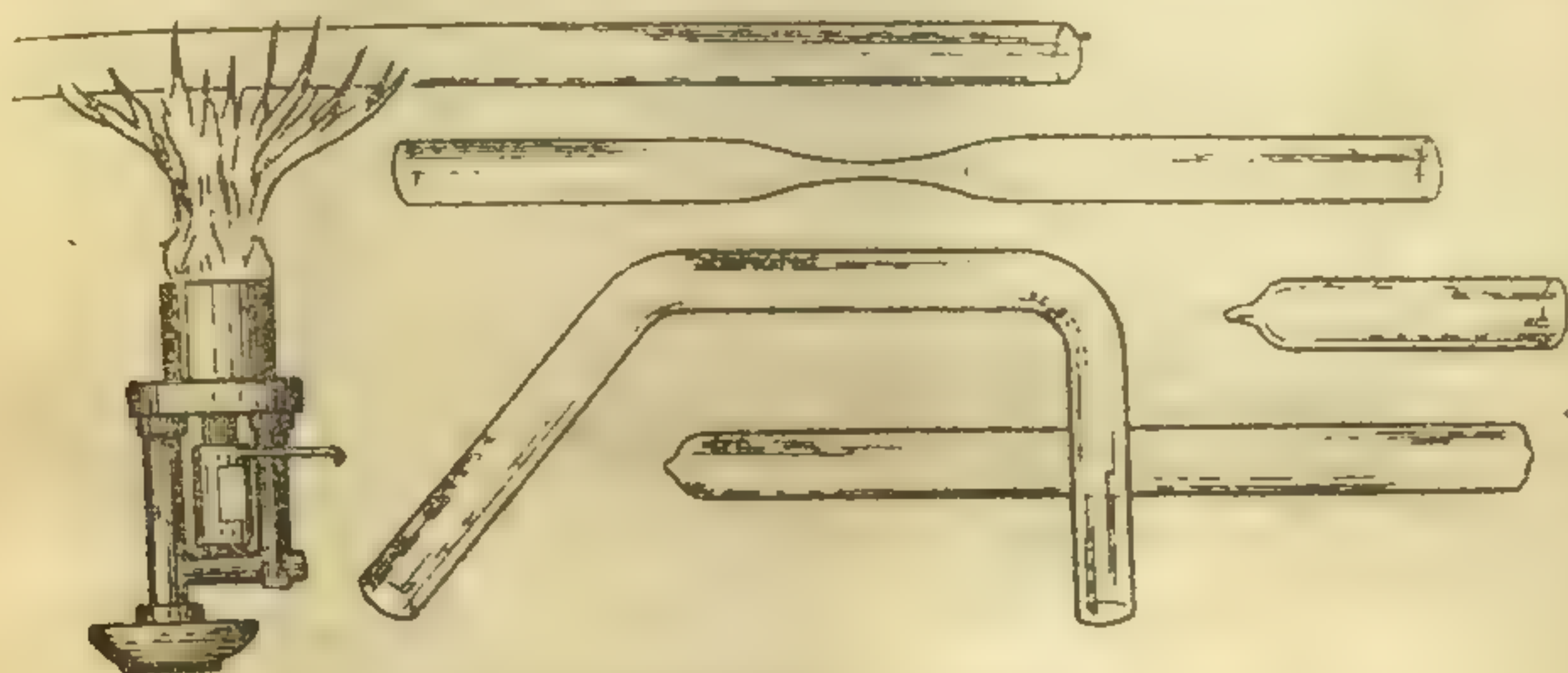


Рис. 8. Наполнение пипетки и выливание жидкости

Палочки и трубочки различной длины и диаметра продаются в магазинах лабораторного оборудования на вес. Чтобы приготовить палочку или трубочку нужной длины для работы, ее надпиливают треугольным напильником и обламывают. Глубина запила должна быть такой, чтобы палочка переломилась в нужном месте при небольшом нажиме, в противном случае можно поранить руку, а палочку сломать не на том месте, где сделан надрез. При резании трубочки надо применять еще меньше усилий, иначе ее можно легко раздавить. Затем концы отпиленных палочек или трубочек оплавливают в пламени газовой горелки или спиртовки.

Если для работы нужна согнутая трубочка, то берут прямую трубочку за концы обеими руками, вводят ее в пламя горелки и, вращая, держат до размягчения места сгиба (рис. 9). Затем сгибают ее на нужный угол, вынимают из пламени и, держа в руках, дают остыть, пока можно будет взять за согнутое место рукой. При сгибании трубки пламя горелки должно быть



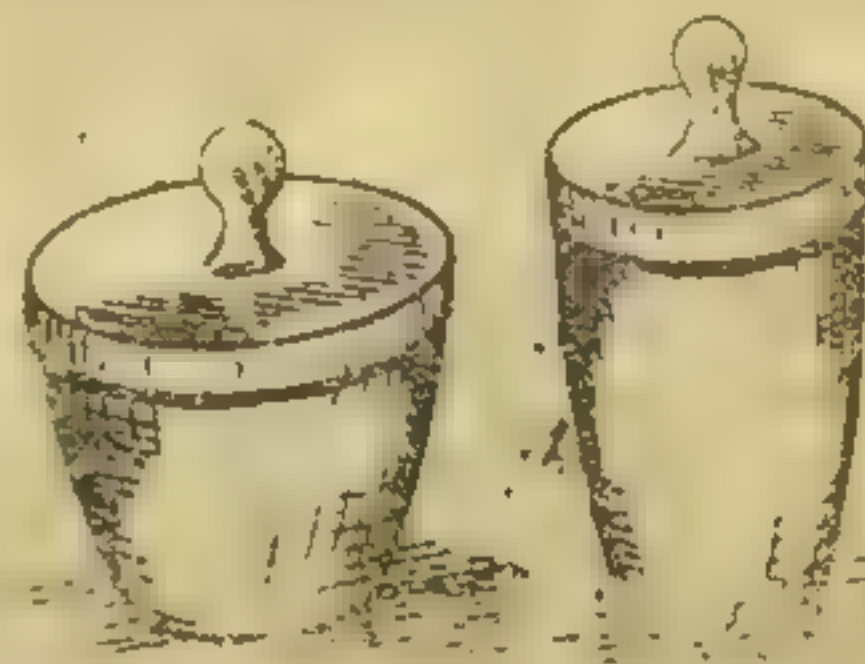
Р и с. 9. Изгибание и вытягивание трубок

как можно более широким. Это очень важно: если поверхность огня небольшая, то внутренняя стенка трубочки при сгибании вминается, а это уменьшает ее просвет, и в этом месте стекло делается очень хрупким и легко разламывается.

Для лабораторной работы часто бывают нужны трубочки с «оттянутыми» или запаянными концами. Оттягивание вначале производится так же, как и сгибание. Но как только руки, держащие трубочку, начинают ощущать ее податливость, слабыми усилиями растягивают ее в разные стороны. Трубочка в размягченном месте разрывается на две, а отверстия запиваются. Чтобы получить оттянутый конец, надо, когда трубочка совсем остынет, осторожно отпилить острый конец напильником и затем оплавить.

Из фарфоровой посуды в лаборатории часто применяются чашки, тигли, ступки.

Ф а р ф о р о в ы е ч а ш к и бывают разных размеров. В них обычно производят выпаривание, преимущественно на водяной бане, а иногда и на пламени горелки. В нагретую чашку так же, как и в другую посуду, нельзя лить холодную воду, чтобы она не лопнула.



Р и с. 10. Тигли фарфоровые

Тигли (рис. 10, 11) применяются для прокаливания или высушивания веществ. Они бывают с фарфоровыми крышечками.

Ступки с пестиками (рис. 12) применяются для размельчения, растирания крупных кусков и кристаллов, но не разбивания их.

Металлический штатив состоит из массивной чугунной доски и прочно прикрепленного к ней железного длинного стержня, на котором прикрепляются особыми муфтами с винтами зажимы и кольца (рис. 13).



Рис. 11. Тигельные щипцы

Зажимы служат для укрепления на штативах бюреток и другой посуды. Лапки зажимов покрыты изнутри пробковыми или резиновыми прослойками, чтобы предохранить стеклянную посуду от раздавливания.



Рис. 12. Ступки фарфоровые

Сетки бывают квадратной формы, медные или, чаще, железные, в середине которых имеется асбестовое покрытие. Благодаря огнестойкости и малой теплопроводности асбест предохраняет посуду от чрезмерного нагревания.

Резиновые трубки служат для соединения частей прибора. Они бывают различного диаметра и с разной толщиной стенок. При диаметре трубки 5 мм толщина стенки должна быть не более 1 мм. Трубка, изготовленная из резины высокого качества, хорошо растягивается без хруста. Перед использованием трубку надо проверить, не имеет ли она на поверхности трещин. Когда резиновую трубку надевают на стеклянную, необходимо, чтобы последняя имела гладкий оплавленный конец. Резиновую трубку держат руками у самого конца ее и надевают не прямо, а несколько наискось, предварительно смочив водой.

Для резиновых трубок имеются зажимы двух типов: Мора 1, 2 и Гофмана 3 (рис. 14). Чаще употребляются зажимы Мора. Пробки бывают корковые, резиновые, деревянные, стеклянные. Деревянные пробки неупруги и потому мало употребительны. Перед применением корковую пробку кипятят минут 10 в

воде, после чего она делается очень мягкой и эластичной. Если и после кипячения пробка не входит в отверстие посуды, тогда ее обжимают пробкомьялкой. Резиновые пробки обжимать не нужно. Если резиновая пробка долго находится в горлышке прибора, то она «пристает» к стеклу и портит посуду, так что отмыть ее бывает почти невоз-

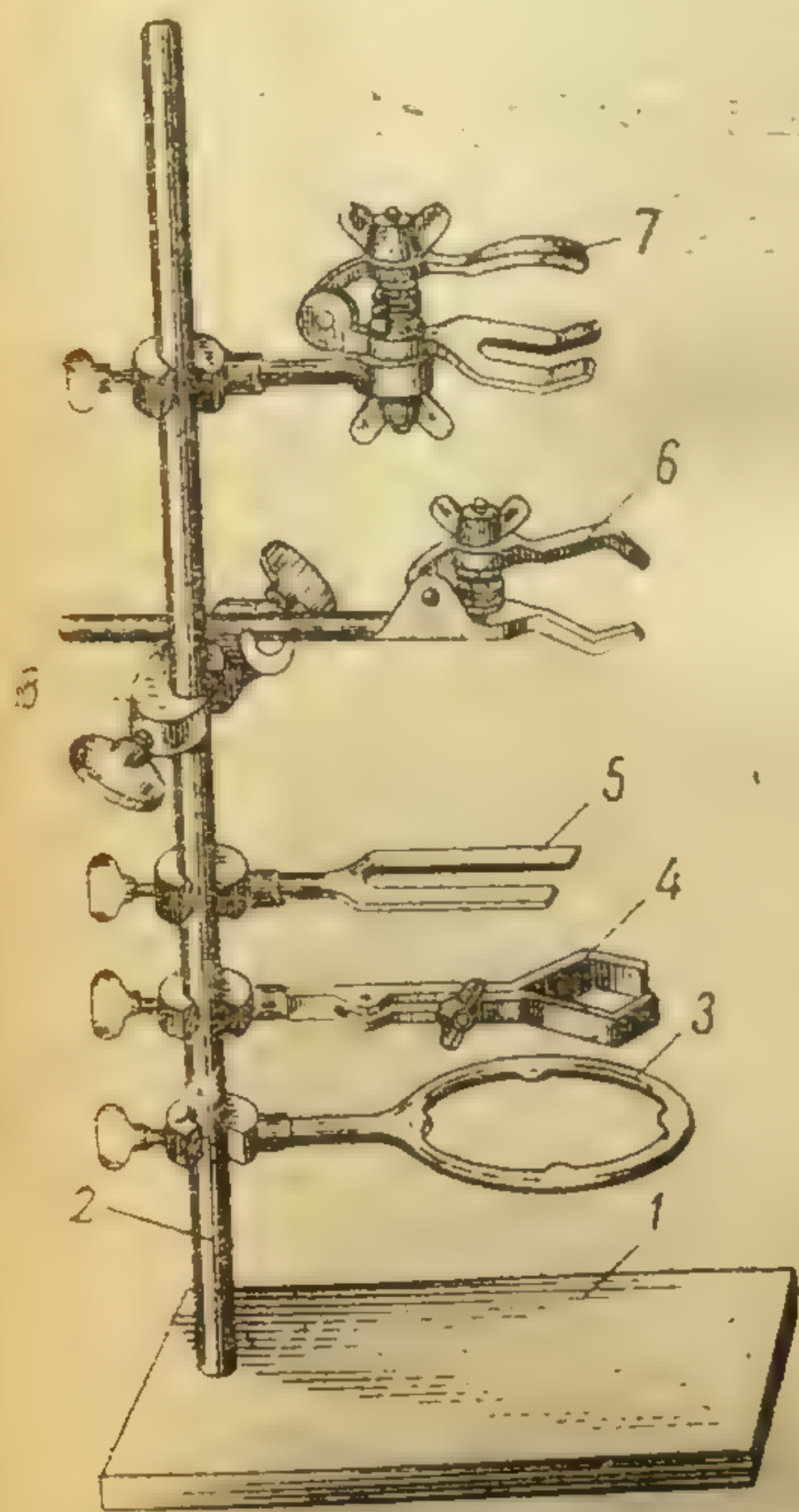


Рис. 13. Штатив лабораторный с держателем:

1 — чугунная подставка; 2 — стержень; 3 — кольцо с муфтой; 4 — лапка с муфтой; 5 — вилка с муфтой; 6 — лапка без муфты; 7 — лапки большие с муфтой; 8 — двусторонняя муфта

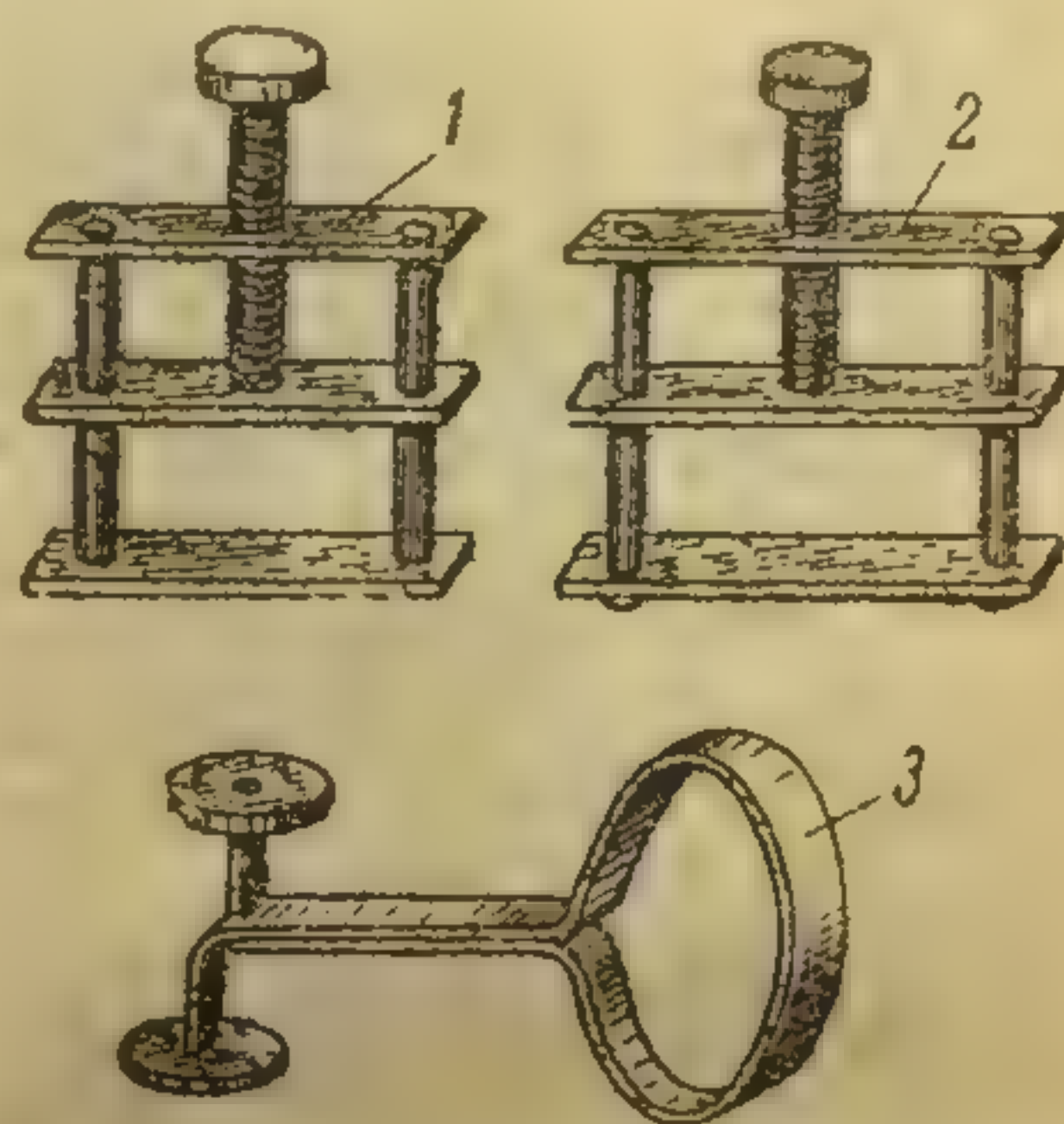


Рис. 14. Зажимы:

1 — винтовой зажим; 2 — винтовой зажим с откидной планкой; 3 — пружинный зажим

можно. Этого не следует забывать, и резиновых пробок в приборе без надобности оставлять не надо.

Фильтровальная бумага. В практике химических лабораторий применяется белая фильтровальная бумага.

Фильтр делают следующим образом. Из бумаги вырезают квадрат, величиной, соответствующей диаметру воронки, и складывают дважды по пунктирам, как показано на рисунке 15. Получившийся меньший квадратик из четырех слоев бумаги обрезают по дуге от противоположных углов. Если теперь отогнуть

один слой бумаги, то получится конус, с одной стороны из одного слоя, а с другой — из трех слоев бумаги. Этот конус вкладывается в воронку для фильтрования.

Для химических анализов применяют обеззоленные фильтры. Они продаются пачками и бывают разного диаметра. На упаковке пачки обозначается вес золы данного фильтра. В продаже обеззоленные фильтры бывают трех видов, которые обозначены красной, белой и синей лентой. В фильтровальной бумаге с красной лентой поры большего диаметра, а с синей лентой — поры очень малого диаметра. Величина пор определяет скорость фильтрования.

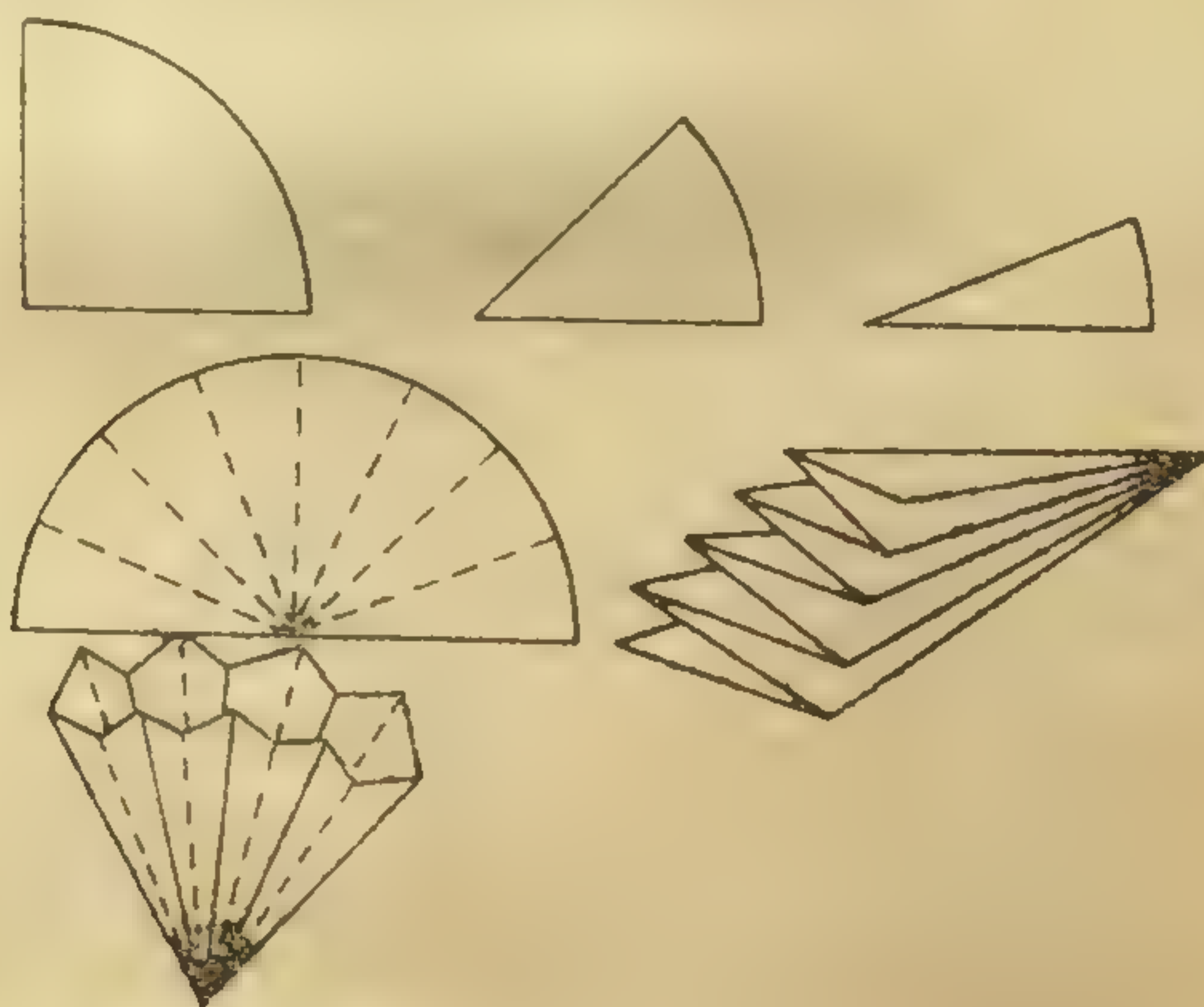
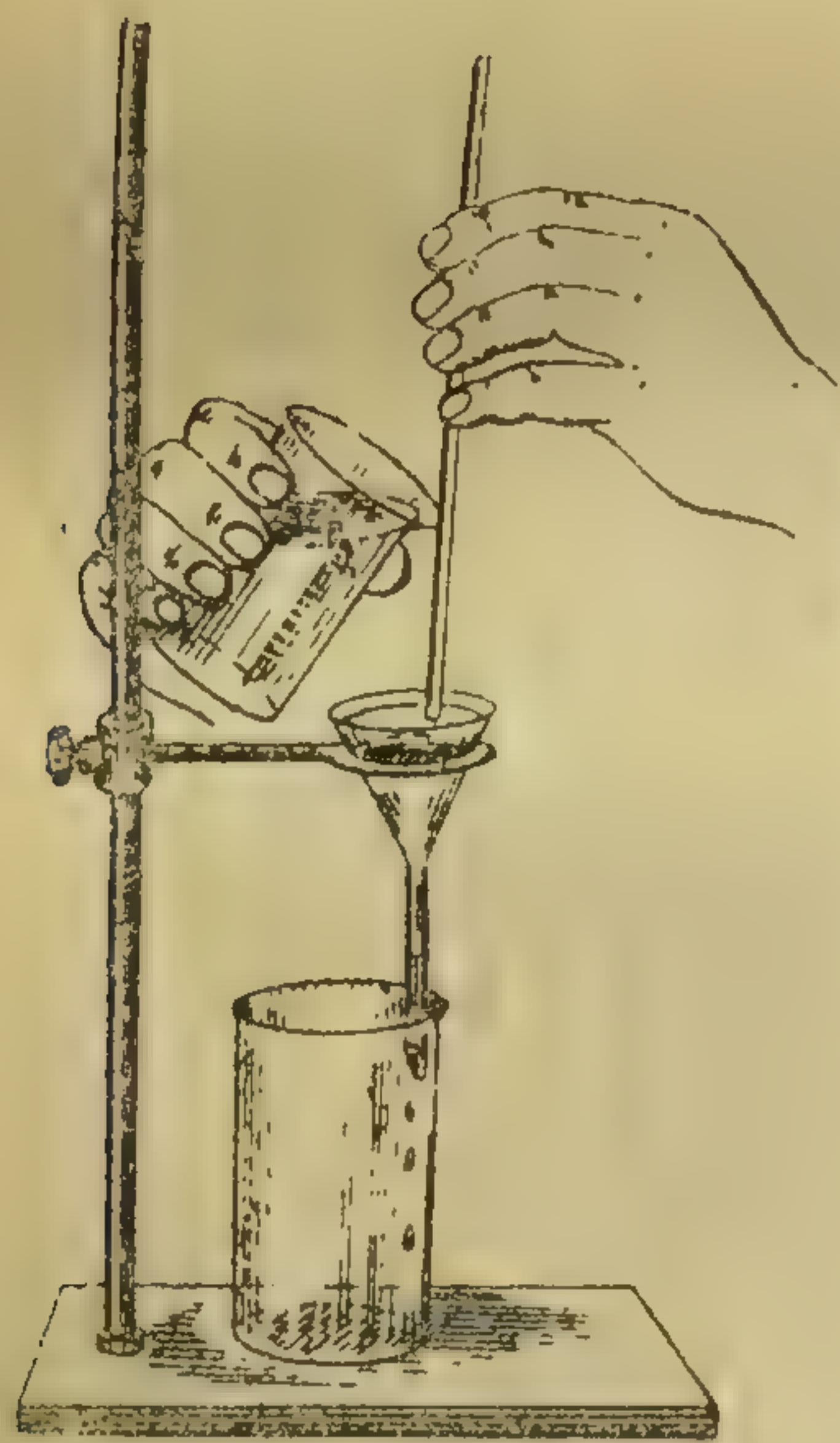


Рис. 15. Приготовление складчатого фильтра

На рисунке 16 показано, как надо сливать жидкость на фильтр, а на рисунке 17 — фильтрование под вакуумом через стеклянный фильтр.

Промывалка (рис. 18) — это колба емкостью 250 или 500 мл; закрывается корковой или резиновой пробкой, в которой просверлено два отверстия. Через одно проходит почти до дна колбы стеклянная трубка (жидкостная), согнутая под острым углом, через другое — стеклянная трубка (нагнетательная), согнутая под тупым углом и оканчивающаяся в колбе почти под пробкой. На наружный конец первой стеклянной трубки надевают небольшой кусочек (длиной 1—2 см) резиновой трубки, снабженный стеклянным накопечником.

Эксикатор предназначается для медленного высушивания различных материалов или для хранения обезвоженных веществ, чтобы они не поглощали влагу. Для этой цели на дно



Р и с. 16. Фильтрование растворов



Р и с. 17. Фильтрование под вакуумом через стеклянный фильтр



Р и с. 18. Промывалка

эксикатора помещают прокаленный хлористый кальций или крепкую серную кислоту. На плечики, в месте перехода нижней части эксикатора в верхнюю, кладут особый фарфоровый вкладыш с несколькими отверстиями. Сверху эксикатор закрывают пришлифованной (по краю) крышкой. Чтобы крышка закрывалась эксикатор плотнее, ее края смазывают вазелином. При открывании крышку не поднимают, а сдвигают в сторону (рис. 19). Также поступают и при закрывании.

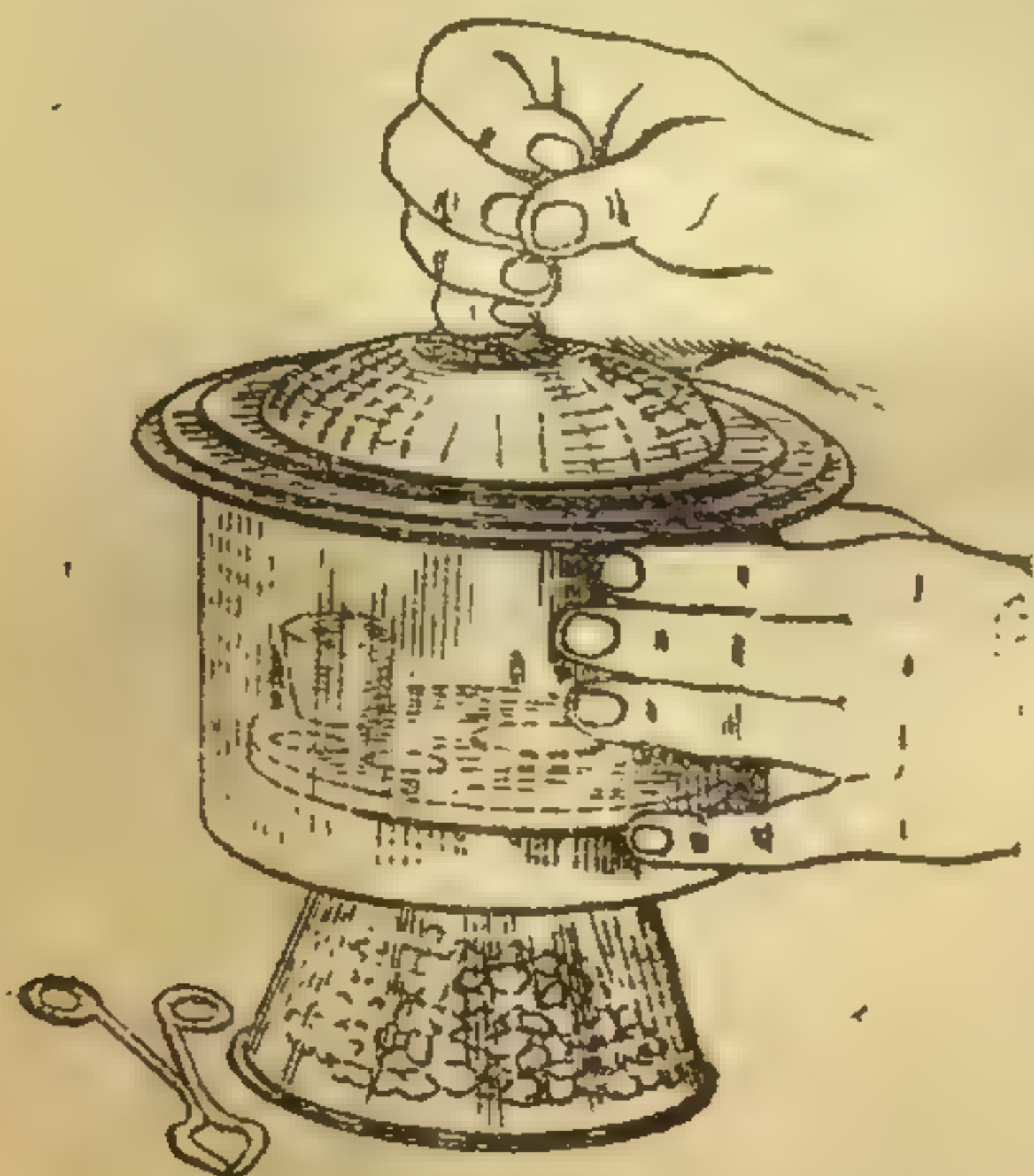


Рис. 19. Открывание крышки эксикатора

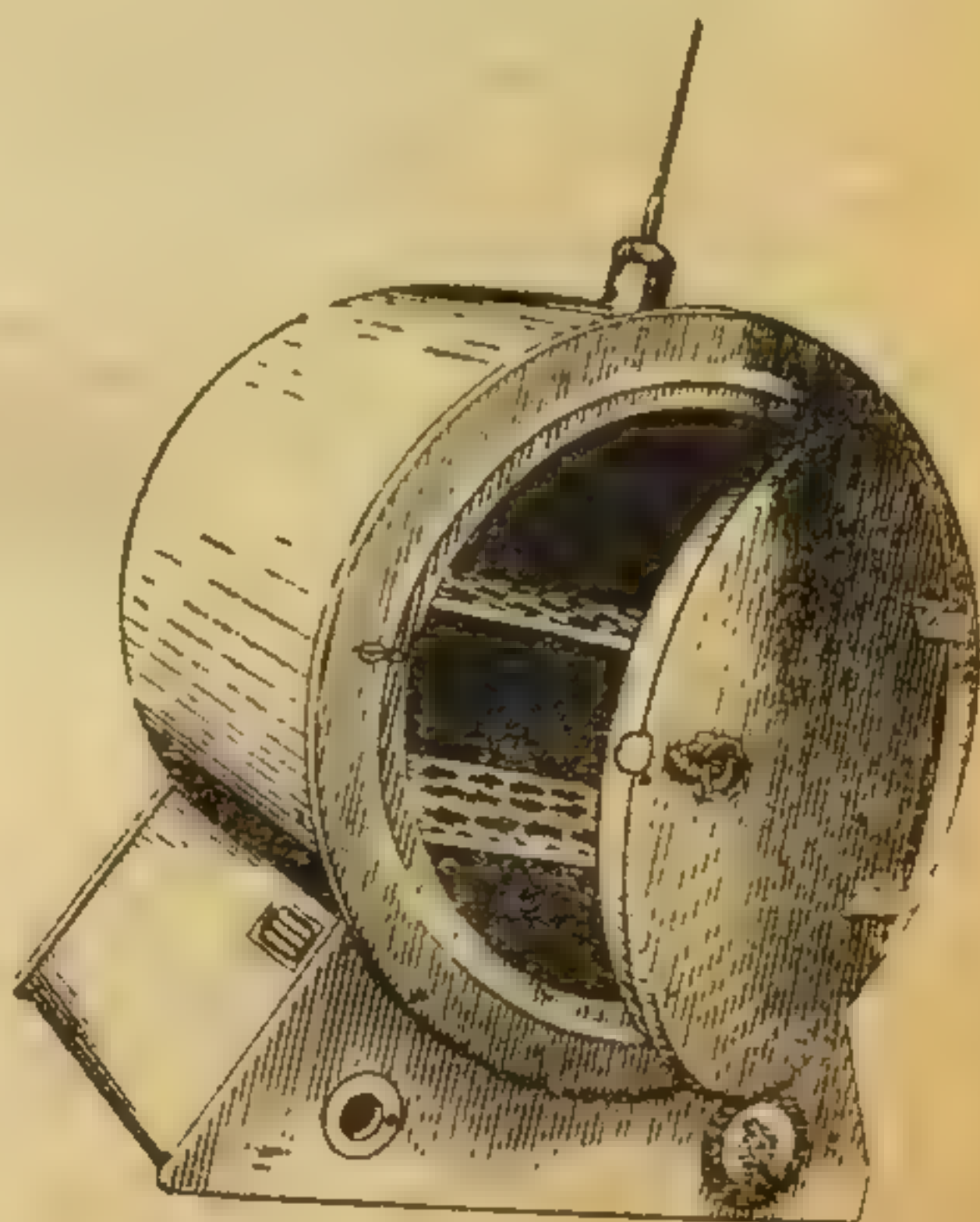


Рис. 20. Электрический сушильный шкаф

Сушильные шкафы (рис. 20) используются для высушивания исследуемых проб и посуды. Они бывают с одинарными и двойными стенками. Необходимая температура в сушильных шкафах достигается путем нагревания их с помощью газа, горячей воды или электроэнергии. На верхней крышке шкафа есть два отверстия: одно для выхода паров удаляемой из проб воды, другое — для закрепления термометра. Внутри шкафа имеются одна, две, иногда и три полки с круглыми отверстиями. Во время работы необходимо следить за температурой внутри шкафа по термометру. Температура тем выше, чем ниже находится полка, т. е. чем она ближе к нагревателю. В большинстве применяемых сушильных шкафов имеются автоматические терморегуляторы.

Ареометры — приборы для измерения удельного веса жидкостей. Ареометр представляет собой стеклянную, запаянную с обоих концов, трубку с расширением, в нижней части которой находится ртуть или свинцовая дробь. В верхней, узкой

части трубки, находится бумажная шкала, которая градуируется по удельному весу больше и меньше единицы.

Водяная баня (рис. 21). Если что-либо нагревать надо при температуре, не превышающей 100° , то пользуются водяной баней. Водяная баня — это металлическая, чаще медная или латунная, посуда с электрическим или газовым обогревом. Крышка водяной бани состоит из нескольких концентрических колец, что дает возможность регулировать величину отверстий в соответствии с применяемой посудой, которая должна быть поставлена на баню. В баню наливают воду так, чтобы до верхнего края оставалось сантиметра три. Нагреваемый сосуд ставится на кольцо соответствующего размера. Есть бани с автоматическим регулятором уровня воды.

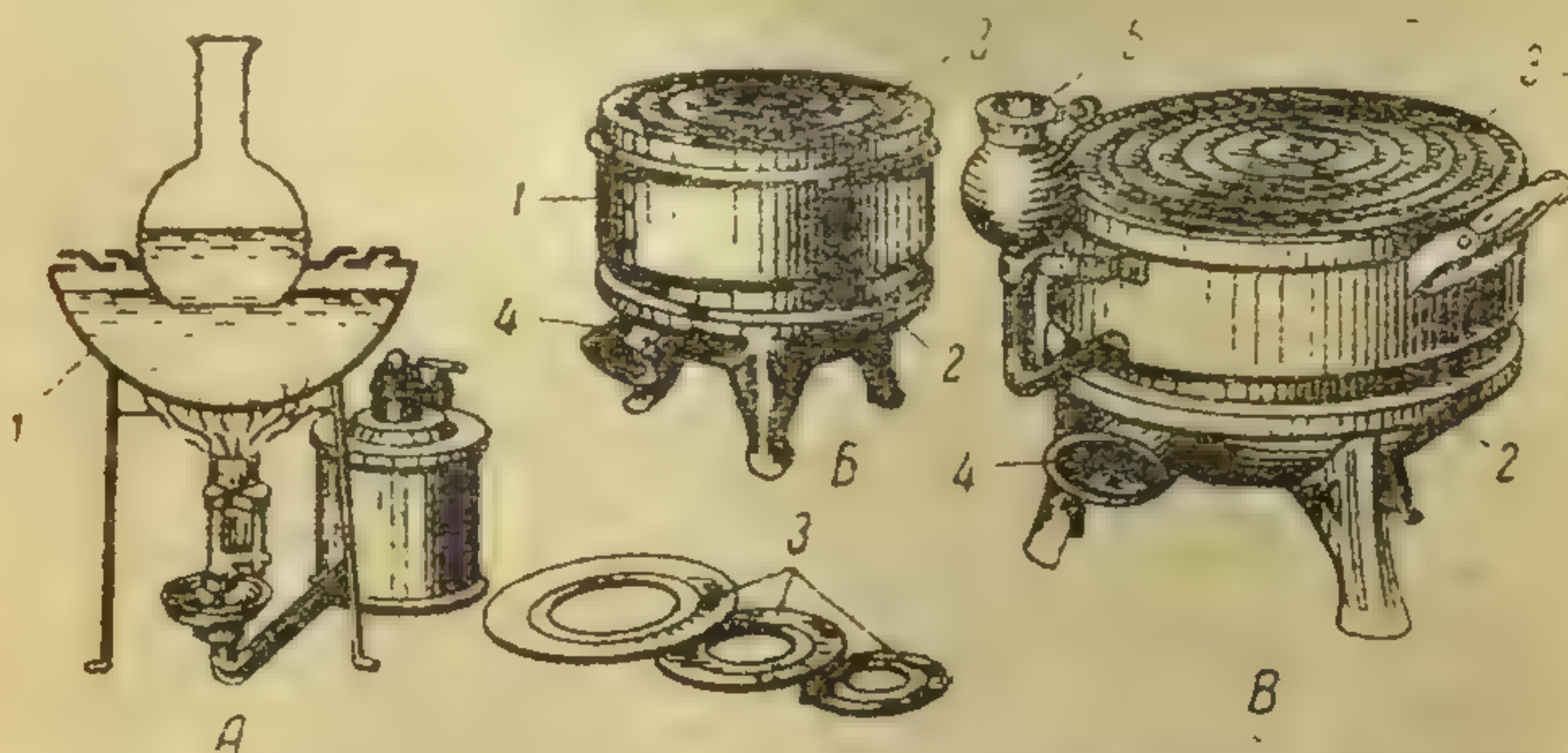


Рис. 21. Бани водяные: А — баня, подогреваемая горелкой; Б и В — электрические водяные бани;

1 — корпус бани; 2 — электроплитка; 3 — конфорка; 4 — вилка включения; 5 — воронка для добавления воды

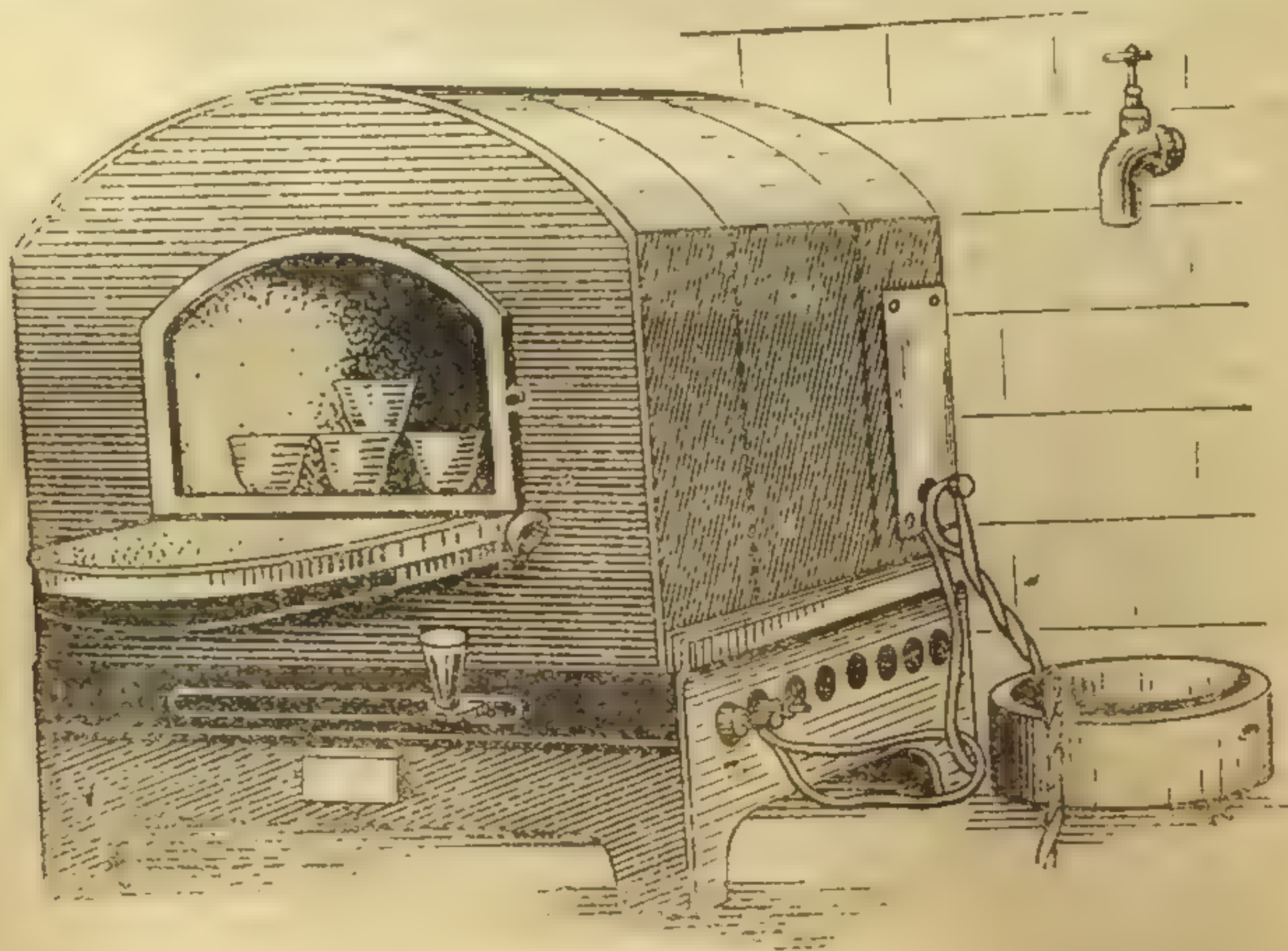
Муфельная печь (рис. 22) — прибор для сухого озоления определяемых проб или для прокаливания осадков при выполнении весовых анализов. Муфельная печь снабжена регулятором для регулирования электронагрева. Температура в ней может достигать $700-1000^{\circ}$. До предельной температуры печь нагревается примерно через час. Определить температуру в печи обычным термометром нельзя. Для этой цели применяются так называемые конуса Зегера — столбики из определенного вещества, которые плавятся при заранее известной температуре.

Горелки. Для нагревания и кипячения раствора в лаборатории (кроме электроплиток) широко применяют спиртовые, газовые или керосиновые (примуса) горелки.

Спиртовая горелка может быть применена для большинства работ. Она дает спокойное, безопасное, равномерное, без копоти пламя. Спиртовая горелка очень проста в обращении, однако, требует постоянного надзора. Если верхняя поверхность горелки нагрелась до такой степени, что к ней нельзя прикоснуться рукой, ее надо немедленно потушить, надевая колпачок.

Нельзя задувать пламя, так как это может привести к воспламенению спирта в резервуаре.

Из газовых горелок наибольшее распространение получила горелка Теклю. Ее боковой отросток служит для присоединения горелки посредством резиновой трубки к источнику газа. Приток газа регулируется винтом. Если винт ввернуть до отказа, доступ газа в горелку полностью прекращается. Приток воздуха регулируется вращением муфты, насаженной на трубку горелки. Для устойчивого положения горелка снабжена массивной подставкой.



Р и с. 22. Печь муфельная

Т е р м о м е т р ы, применяемые в лаборатории, рассчитаны на различные диапазоны температур. Стекланные термометры не могут применяться для измерения температур, превышающих 300° .

Б а р о м е т р — прибор для измерения атмосферного давления или давления воздуха и газов, применяемых для различных целей. В лабораториях используются металлические барометры-анероиды, а также ртутные барометры.

ВЕСЫ И ВЗВЕШИВАНИЕ

Весы бывают различного назначения, а следовательно, и различного устройства.

Наиболее просто устроены весы аптекарские. При работе их подвешивают на штативе или специально изготовленной подставке. Большой точности на этих весах получить нельзя, взвешивать на них можно грузы не больше 200 г.

Для грубого взвешивания больших количеств веществ с предельной точностью до 1 г применяются обычные магазинные чашечные весы. Предел нагрузки весов 4-5 кг.

При более точном исследовании применяются весы точные — техно-химические и аналитические. Их устанавливают на прочные подставки, устроенные на цементированных тумбах или на кронштейнах, вмонтированных в капитальную стену. Весы помещают подальше от вытяжного шкафа и раковины, так как газы и брызги воды отрицательно влияют на их точность. Лучше, если под весовую оборудуется специальная комната.

Технохимические весы имеют массивный стержень, укрепленный на деревянной подставке. Коромысло весов опирается острием треугольной призмы на опорную стальную пластинку, укрепленную на колонке. На призмах же покоятся и сережки, на которых подвешены чашки. Призмы — стальные, с острым ребром; если они заржавеют, то весы не будут давать точных результатов. Поэтому время от времени их надо просматривать, протирать промасленной, а затем сухой тряпочкой и не допускать коррозии. Технохимические весы имеют арретир — приспособление, поднимающее коромысло и сережки, когда весы находятся в нерабочем состоянии, благодаря чему лучше сохраняются призмы. Арретир приводится в действие рычагом. На технохимических весах можно взвешивать с точностью до 0,01 г. Предельная нагрузка — до 500 г.

Аналитические весы — основной инструмент химика-аналитика. Каким бы методом не выполнялся анализ, первой операцией является взятие навески анализируемого вещества, т. е. химический анализ начинается взвешиванием на аналитических весах. Это очень чувствительный прибор, позволяющий взвешивать с точностью до четвертого десятичного знака (до 0,0001 г). Точность и продолжительность работы весов зависит от строгого соблюдения правил пользования ими и техники взвешивания.

В основе устройства аналитических весов лежит принцип равноплечевого рычага первого рода. Условием равновесия такого рычага является равенство моментов обоих плеч, т. е. $M_1 = M_2$. Момент силы равен произведению силы на плечо ее приложения к точке опоры: $M = Fl$, следовательно, условие равновесия может быть записано так: $F_1 l_1 = F_2 l_2$. Сила веса F равна массе m , умноженной на ускорение силы тяжести g , отсюда $m_1 g l_1 = m_2 g l_2$. Сокращая в полученном равенстве g и $l_1 = l_2$ (по условию, поскольку рычаг равноплечий), получим, что условием равновесия является равенство масс ($m_1 = m_2$). Весы будут находиться в равновесии, если масса равновесок будет равна массе взвешиваемого предмета. Так как сила равна массе, умноженной на ускорение (в данном случае — на ускорение силы тяжести) $F = mg$, то $m = \frac{F}{g} = \frac{1}{g} F = kF$, т. е. вес тела пропорционален силе тяжести. Поэтому мы говорим о взвешивании.

вании вместо измерения массы. Таким образом, аналитические весы являются прибором, при помощи которого производится сравнение масс взвешиваемых предметов и равновесок.

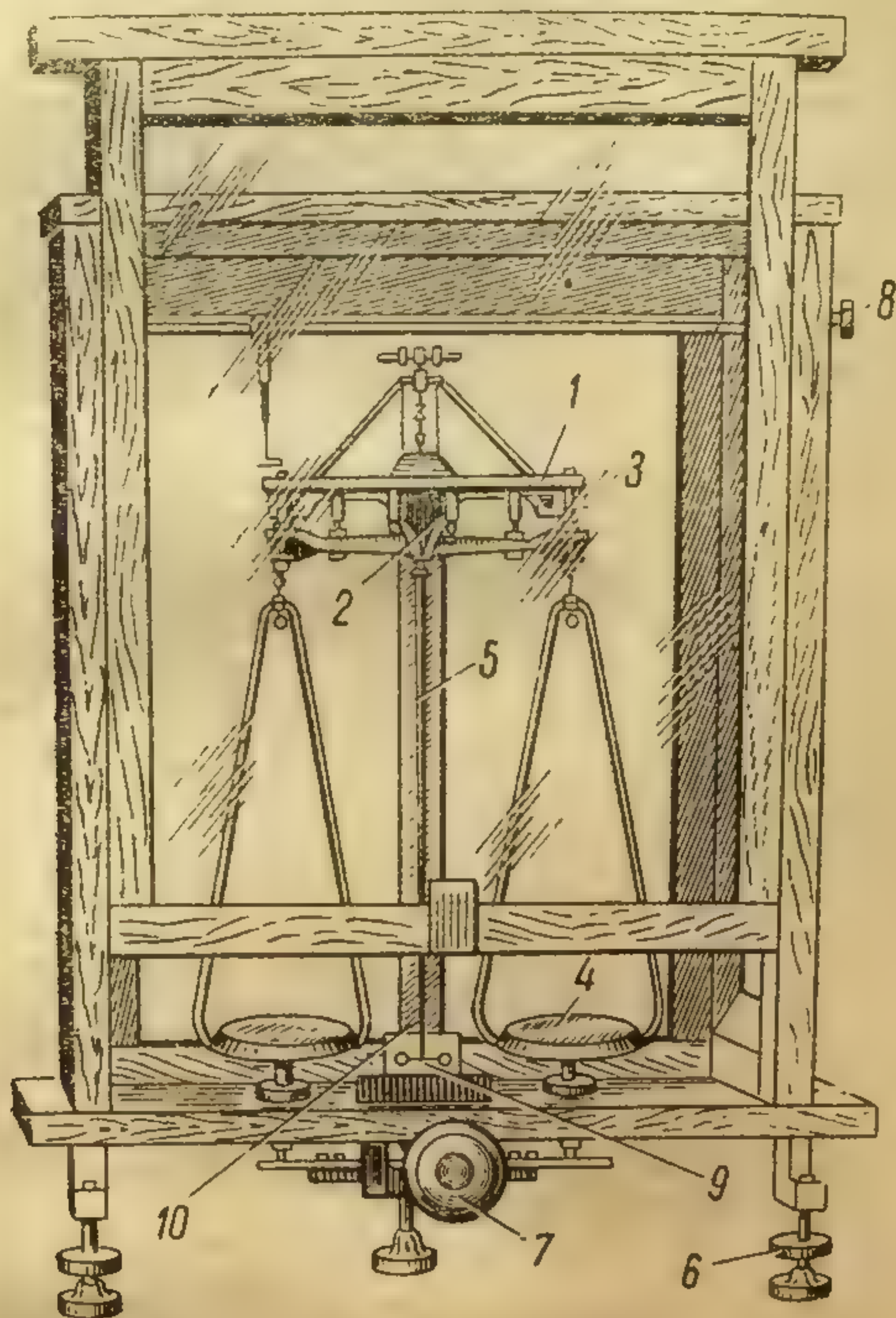


Рис. 23. Аналитические весы АВ-200:

- 1 — коромысло; 2 — центральная опорная призма; 3 — сережка;
4 — чашка; 5 — колонка; 6 — шарнирная ножка; 7 — арретир;
8 — рукоятка рейтерного механизма; 9 — шкала; 10 — стрелка

Аналитические весы (рис. 23) состоят из таких основных частей: стеклянной (или мраморной) плиты, на которой укреплена колонка с подвижным механизмом, коромысла с сережками и дужками, на которые подвешены чашки, арретирного и рейтерного механизмов, указательной стрелки и шкалы.

Одной из важных частей весов является коромысло 1, представляющее равноплечий рычаг, снабженный длинной указательной стрелкой 10, которая дает возможность наблюдать колебания. Для отсчета колебаний стрелки на колонке весов 5

прикреплена шкала 9 с делениями. Центральное деление шкалы принимают за нулевое. Влево и вправо от него нанесено по десять делений.

На обоих концах коромысла находятся полированные призмы из агата, острия которых обращены кверху. На эти острия во время взвешивания опираются полированными призмами из агата сережки весов 3, на которые подвешиваются чашки 4. В центре коромысла, с нижней стороны, укреплена полированная трехгранная агатовая призма. Она опирается на агатовую пластинку, вмонтированную в колонку весов. Эта призма служит опорой коромысла. Чтобы ребра призмы не притуплялись под тяжестью коромысла и чашек, весы снабжены особым приспособлением — арретиром. Закрывают арретир поворотом рукоятки 7 вправо, открывают, поворачивая рукоятку арретира влево до упора. При закрытом арретире коромысло и сережки весов опираются на опорные рычаги, так что между остриями призм и опорными пластинками образуется расстояние («зазор») примерно в 0,1 мм. При открытом арретире опорные рычаги опускаются, и коромысло опирается острием центральной призмы на агатовую пластинку, находящуюся на колонке, а сережки агатовыми пластинками опираются на острия концевых призм коромысла, и коромысло начинает совершать колебания.

Для отвешивания тысячных и десятитысячных долей грамма на коромысле весов имеется шкала с делениями и нулем посредине, на которую помещают особую дугообразную гирьку, называемую рейтером. Передвигают рейтер по шкале с помощью особого стержня, находящегося над коромыслом. Стержень может передвигаться вдоль коромысла с помощью рукоятки 8, находящейся справа вверху на футляре весов. На левом конце стержня находится крючок, которым подхватывают рейтер и переносят на соответствующее деление шкалы.

Для предохранения от пыли, а также чтобы не влияли токи воздуха на колебания коромысла во время взвешивания, весы помещают в застекленный шкафчик-футляр с передней и двумя боковыми дверцами.

Установка весов. Весы должны находиться в отдельном помещении (весовой комнате), расположенном на северной стороне. Их устанавливают на прочную полку, опирающуюся на кронштейны, укрепленные в капитальной стене. Если отдельного помещения нет, то весы могут быть установлены и в лаборатории. При этом необходимо придерживаться следующих правил: весы устанавливают в том месте, где имеется капитальная стенка; нельзя устанавливать весы напротив окна на солнечной стороне, вблизи вытяжного шкафа и батареи центрального отопления.

Весы должны стоять строго вертикально, что проверяют по имеющемуся у них отвесу. Путем вращения передних шарнир-

ных ножек весам можно придать нужное вертикальное положение. Опорные ножки весов ставят на специальные металлические подставки, имеющие на верхней стороне небольшие углубления для острия ножек.

Определение нулевой точки весов. Нулевой точкой (или нулевым делением) называется то деление шкалы, от которого стрелка весов при их равновесии отклоняется влево и вправо на одинаковое число делений.

Нулевая точка может устанавливаться двумя способами:

1. При выполнении аналитических работ нулевую точку устанавливают на центральное деление шкалы путем вращения марнирных грузиков, находящихся на концах коромысла. Грузики слегка вращают влево или вправо до тех пор, пока при открывании арретира стрелка начнет отклоняться на одно и то же число делений от центрального, нулевого деления.

2. Для оценки работы весов нулевую точку определяют по качаниям стрелки, не принимая во внимание первых двух-трех качаний как случайных. Отсчеты начинают слева и там же заканчивают. Всего отсчитывают три качания: два влево и одно вправо. Нулевую точку рассчитывают по формуле:

$$L_0 = \frac{-l_1 + 2l_2 - l_3}{4} \text{ дел.},$$

где буквой l обозначены отсчеты колебаний стрелки. Формула применяется, когда нулевым считают центральное деление шкалы. Перед отсчетами влево ставят минус, а перед отсчетами вправо — плюс.

Пример. При определении нулевой точки весов по методу качаний стрелки были получены следующие отсчеты:

$$\begin{array}{l} \text{слева} \\ -l_1 = 10,5 \\ -l_3 = 10,0 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \text{справа} \\ +l_2 = 8,0 \end{array}$$

$$\begin{aligned} \text{Нулевая точка } L_0 &= \frac{-10,5 + 2 \times 8 - 10}{4} = \frac{-20,5 + 16}{4} = \\ &= -\frac{4,5}{4} \approx -1,0 \text{ дел.} \end{aligned}$$

Нулевая точка в данном случае приходится на одно деление влево от центрального деления шкалы.

Оценка работы аналитических весов. Качество работы аналитических весов оценивается следующими показателями (параметрами):

- 1) постоянством показаний ΔL_0 ,
- 2) чувствительностью S ,
- 3) неравноплечностью y .

Постоянство показаний весов характеризуется смещением нулевой точки их при повторном открывании арретира, т. е. определяется разностью нулевых точек при двух ее определениях.

Открывают арретир, определяют нулевую точку L_0 , закрывают арретир, снова открывают и определяют нулевую точку L_{02} . По постоянство показаний находят по формуле:

$$\Delta L_0 = L_{02} - L_0$$

Весы считаются пригодными для работы, если смещение нулевой точки ΔL_0 не превышает 0,5 деления шкалы.

Чувствительностью называется цена одного деления шкалы, выраженная в мг. Определяют ее два раза: при 1/10 от грузоподъемности и при полной грузоподъемности весов. В условиях лаборатории чувствительность обычно определяют только при нагрузке в 1/10 от грузоподъемности весов. Это делают так:

1) на обе чашки ставят гирьки по 10 или 20 г, в зависимости от грузоподъемности, и находят нулевую точку L_0 методом качаний;

2) посредством рейтера на правую половину шкалы коромысла дают нагрузку в 1 мг и снова находят нулевую точку L_{02} ;

3) чувствительность S рассчитывают по формуле:

$$S = \frac{1}{L_{01} - L_{02}} \text{ мг/дел.}$$

На весах можно взвешивать, если чувствительность не превышает 0,8 мг/дел., т. е. если цена одного деления шкалы не превышает указанной величины. Неравноплечностью называется неравенство плеч коромысла весов. Она выражается величиной той нагрузки в мг, которую следует приложить к одному из плеч коромысла для устранения погрешности, называемой неравноплечностью плеч. Допустимая погрешность не должна превышать 0,8 мг. Если же неравноплечность больше этой величины, то весами можно пользоваться при условии двойного взвешивания.

Сначала предмет взвешивают при условии двойного взвешивания, т. е. гирьки помещают на правую, взвешиваемый предмет — на левую чашку и находят вес предмета P_1 . Затем гирьки и взвешиваемый предмет меняют местами и находят вес предмета P_2 .

Истинный вес P рассчитывают по формуле: $P = \frac{P_1 + P_2}{2}$.

Разновесы. Для взвешивания на аналитических весах применяют аналитические разновесы, которые хранят в специальной коробке с отдельными гнездами для каждой гирьки.

Разновески (гирьки) расположены в коробке в определенном порядке. Системы разновесок бывают обычно 5 : 2 : 2 : 1, либо 5 : 2 : 1 : 1 : 1. В первом случае в коробке находятся гирьки в 50, 20, 10, 5, 2, 2, 1 г.

Доли грамма делают в той же системе, причем для того, чтобы мелкие разновески было легче отличать, им придают разную форму. Например, доли грамма с цифрой 5 (0,5 и 0,05 г) делаются в виде правильных шестиугольников с цифрой 2 (0,2 и 0,02 г) — в виде квадратов и с цифрой 1 (0,1 и 0,01 г) — в виде треугольников. Каждая мелкая разновеска имеет отог-

нутую под прямым углом часть треугольника (или «ушко»), за которую ее и берут пинцетом. В каждой коробке имеется пинцет. Брать разновески можно только этим пинцетом, но не рукой. Разновески от 1 г и более берут за удлиненный верхний конец их, а мелкие (меньше 1 г) — за отогнутый угол.

Аналитические весы и разновесы должны иметь паспорт с указанием их класса и погрешностей для каждой гирьки. Один раз в два года их проверяет инспектор палаты мер и весов и выдает новый паспорт на весы и разновесы.

Рейтер. Применять разновески мельче 0,01 г было бы очень неудобно из-за их крайне малых размеров. Для уравновешивания тысячных и десятитысячных долей грамма служит рейтер, сделанный из алюминиевой проволоки. Вес его равен 0,01 г. При помощи стержня рейтер можно передвигать по шкале, прикрепленной к коромыслу весов. Эта шкала имеет центральное нулевое деление, влево и вправо от которого находится по 10 делений, обозначенных цифрами, каждое из которых в свою очередь разделено на 5 мелких делений. Каждое большое деление обозначает 0,001 г, или 1 мг, одно малое деление — 0,0002 г, или 0,2 мг. Эти деления служат для посадки на них рейтера при взвешивании.

Перемещая рейтер вправо от нуля, можно увеличивать нагрузку правой чашки весов от 0,0002 г до 0,01 г. Рейтер помещают только на правую половину шкалы.

Правила пользования аналитическими весами. Приступая к взвешиванию, нужно помнить, что обращение с аналитическими весами требует очень большой тщательности и осторожности. Чтобы они не портились и давали правильные результаты, необходимо строго соблюдать приведенные ниже правила.

1. Весы должны быть установлены вертикально по отвесу. Установленные весы нельзя сдвигать с места, в противном случае их нужно снова устанавливать.

2. Во время взвешивания необходимо сидеть точно против весов и не опираться на полку, на которой они стоят.

3. Перед взвешиванием проверить состояние весов, определить нулевую точку по методу качаний или установить ее на центральное деление шкалы осторожным вращением шарнирных грузов на концах коромысла.

4. Для помещения на чашки взвешиваемого предмета и разновесок можно открывать только боковые дверцы шкафа, причем во время взвешивания они должны быть закрыты. Передняя дверца должна быть все время закрытой.

5. Не ставить на чашку весов горячих, недостаточно сухих или не совсем чистых предметов. Взвешиваемые предметы должны иметь температуру комнаты. Для этого перед взвешиванием они должны находиться в ней не менее 15—20 мин.

6. Взвешиваемое вещество надо класть непременно в бюкс

химический стаканчик или на часовое стекло, а нельзя класть его прямо на чашку весов.

7. Взвешиваемый предмет помещать на левую, а разновески — на правую чашку весов.

8. При установке на чашку весов взвешиваемого предмета или разновесок, а также при их снятии весы должны быть арретированы.

9. Открывать арретир необходимо плавно, без толчков. Закрывать арретир можно только тогда, когда стрелка весов подходит к центральному делению шкалы.

10. Добавление или снятие разновесок, а также прибавление или убавление взвешиваемого вещества можно делать лишь после арретирования весов.

11. Нельзя трогать руками разновески, а также чашки и коромысло весов. Разновески надо брать специальным пинцетом с роговыми или пластмассовыми наконечниками.

12. Рейтер насаживается и передвигается по шкале коромысла только специальным рычагом. Если рейтер почему-либо упадет, то его надо повесить на крючок рычага при помощи пинцета.

До взвешивания и после него рейтер должен висеть на крючке стержня и не касаться шкалы коромысла.

13. По окончании взвешивания весы нужно арретировать, а разновески правильно уложить в соответствующие гнезда коробки, проверив одновременно запись результатов взвешивания, снять взвешиваемый предмет, закрыть дверцы и стержень рейтерного механизма вдвинуть внутрь шкафа.

14. Внутри шкафа весов не должно находиться ничего. Весы надо содержать в безукоризненной чистоте. Нельзя просыпать взвешиваемое вещество внутри весов. По окончании взвешивания нужно осторожно обмести пыль внутри шкафа мягкой кисточкой.

Взвешивание. Приступая к взвешиванию, убедитесь в том, что внутри весов чисто, а также проверьте, висит ли рейтер на крючке движка и все ли разновески лежат в соответствующих гнездах коробки.

При взвешивании на аналитических весах соблюдайте следующий порядок:

1. Определите нулевую точку весов.

2. Открыв левую дверцу шкафа, положите на чашку весов взвешиваемый предмет (часовое стекло, тигель и пр.).

3. Закрыв левую дверцу, откройте правую и пинцетом кладите на чашку весов разновески, начиная с большой.

Для примера взвесим часовое стекло. Чтобы узнать приблизительный вес, стекло предварительно взвесьте на техно-химических весах. Допустим, что оно весит 9,8 г. После этого положите стекло на левую чашку аналитических весов, а на правую чашку поставьте 10 г. Слегка поворачивая левой рукой арретир,

наблюдайте отклонение стрелки весов. Если обнаружится, что стрелка резко отклоняется в какую-нибудь сторону, то, не доводя арретир до конца, закройте его поворотом вправо до упора. При этом, если стрелка отклоняется влево, значит разновеска тяжелее взвешиваемого предмета. Арретируйте весы, снимите пинцетом поставленную разновеску (10 г), поставьте ее в свое гнездо в коробке, а на чашку весов поставьте 9 г. Слегка поверните арретир и снова следите за стрелкой. Если стрелка при этом отклоняется вправо, аррестируйте весы, прибавьте на чашку весов разновеску 0,5 г и снова откройте арретир.

Продолжайте таким образом прибавлять или снимать разновески до тех пор, пока не дойдете до разновески 0,01 (10 мг). Когда от увеличения веса на 0,01 г стрелка отклонится влево от нулевой точки, снимите с чашки 0,01 г, закройте правую дверцу и переходите к работе с рейтером. При работе с рейтером соблюдайте также определенный порядок. Сначала при помощи движка поставьте рейтер на деление 5. Откройте полностью арретир до отказа и наблюдайте отклонение стрелки. Если стрелка отклоняется больше в правую сторону, то и рейтер передвигайте вправо и, наоборот, если стрелка отклоняется влево, то и рейтер передвигайте в ту же сторону. При этом помните, что передвигать рейтер можно только при арретированных весах и что крючок, при помощи которого опускают или поднимают рейтер, должен быть поднят после того, как рейтер повешен на шкалу. Передвигая рейтер сначала по делениям шкалы, а потом между двумя соседними делениями, добейтесь такого положения, когда стрелка весов отклоняется на одинаковое число делений от нулевого деления, т. е. наступит состояние равновесия. На этом взвешивание можно считать законченным.

4. Запишите вес взвешиваемого предмета. Для этого сначала запишите вес, не снимая разновесок с чашки. При этом не следует забывать, что цифры на шкале рейтера означают тысячные доли грамма, а каждое малое деление — 0,002 г. Закончив запись, проверьте ее, снимая с чашки все разновески, начиная с самой большой. Положите разновески в соответствующие гнезда коробки, а затем снимите с чашки взвешиваемый предмет и закройте дверцы шкафчика.

5. Взвесив тару (часовое стекло) и записав ее вес, приступите к взятию навески. Допустим, что для анализа нужно взять точную навеску в пределах 0,5—0,7 и что часовое стекло весит 9,4172 г. На правую чашку весов поставьте разновески в количестве, близком к сумме $9,4 + 0,5$ или $9,4 + 0,7$ г, например 9,9 г. Насыпьте на взвешенное стекло около 0,5 г анализируемого вещества. Затем положите стекло с взвешиваемым веществом на левую чашку весов и слегка поверните арретир.

Если стрелка весов отклоняется вправо от нулевой точки, значит перетягивает тара с навеской. Если же стрелка отклоняется влево, то прибавьте еще немного взвешиваемого вещества.



Рис. 2

устройства мелких разновесок. На колонке устройства закреплены две алюминиевые крышки, в них вводят меньшего диаметра, так они не касаются при повороте. Эти крышки при повороте так называемые подвижные. При колебаниях крышки в

Помните, что прибавлять и убавлять взвешиваемое вещество можно только при арретированных весах.

Добившись такого положения, при котором тара с навеской перетягивает, проверьте, не слишком ли много вещества прибавлено. На правую чашку весов добавьте разновеску в 0,2 г. Если стрелка весов отклонилась влево от нулевой точки, то навеска взята правильно и теперь нужно ее точно взвесить. Для этого снимите с правой чашки весов 0,2 г и, прибавив более мелкие разновески, добейтесь равновесия весов так же, как это делалось при взвешивании часового стекла.

Аналитические демпферные весы с оптическим отсчетом типа АДВ-200 (рис. 24) и автоматическим устройством для накла-

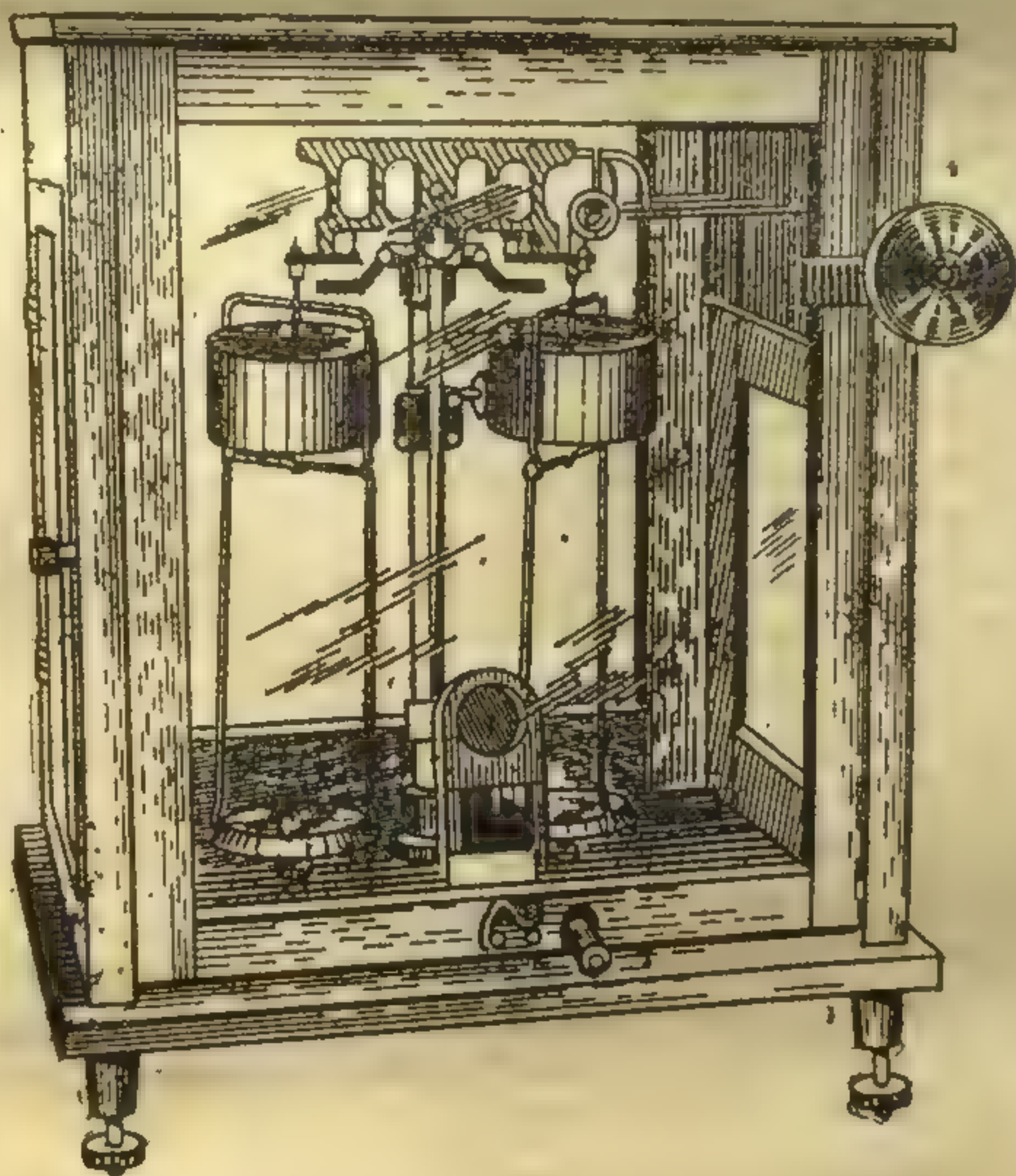


Рис. 24. Аналитические весы АДВ-200

дывания мелких разновесок (меньше 1 г) имеют следующее устройство. На колонке весов, с обеих сторон над чашками, укреплены две алюминиевые круглые коробки. Сверху коробки открыты и в них входят две алюминиевые крышки несколько меньшего диаметра, так что при вхождении в большую коробку они не касаются их стенок.

Эти крышки при помощи крючков подвешены к сержкам. Это так называемые демпферы или воздушные успокоители. При колебаниях коромысла во время взвешивания происходит опускание крышки в коробку на одном плече коромысла и под-

нятие крышки — на другом плече. При опускании крышки в коробке сжимается воздух и происходит в связи с этим быстрое торможение колебаний. После двух-трех качаний стрелка коромысла останавливается на положении равновесия.

Миллиграммовые разновески навешиваются и снимаются с поперечной планки, укрепленной на правой сережке с помощью особого механизма, управление которым осуществляется при помощи двух лимбов, расположенных спереди на футляре весов. Лимбы снабжены цифровыми шкалами. Поворотом большого лимба на планку навешивают разновески от 100 до 900 мг, а поворотом малого лимба — разновески от 10 до 90 мг. Слева от лимбов находится указатель, против которого на лимбе читают вес. Например, если против указателя на небольшом лимбе стоит цифра 3, а на малом 70, то это значит, что на весы подано 370 мг, или 0,37 г. Следовательно, цифры большого лимба означают десятые и цифры малого — сотые доли грамма (нуль при этом отбрасывается).

Миллиграммы и десятые доли миллиграмма, т. е. тысячные и десятитысячные доли грамма, находят по величине отклонения стрелки по микрошкале на световом экране оптического приспособления, называемого вейтографом. Экран освещается посредством осветителя, укрепленного на задней стенке весов. Электролампочка осветителя включается автоматически при открывании арретира весов. Если на правую чашку с помощью малого лимба дать нагрузку в 10 мг, стрелка весов отклонится на 10 больших делений (обозначенных цифрами), или на 100 малых делений. Следовательно, чувствительность весов составляет 0,0001 г, т. е. она такая же, как для обычных аналитических весов.

Чувствительность весов может со временем несколько измениться и тогда нагрузка в 10 мг не будет вызывать отклонения стрелки точно на 10 больших делений. В этом случае чувствительность можно отрегулировать посредством поворота гайки, находящейся на вертикальном винтовом стержне, который укреплен сверху, посередине коромысла.

По сравнению с обычными аналитическими весами АДВ-200 обладают такими преимуществами:

- 1) наклеивание разновесок от 10 до 900 мг автоматизировано;
- 2) для нахождения при взвешивании третьего и четвертого десятичных знаков не нужно прибегать к длительному способу передвижения рейтера по шкале коромысла;
- 3) нет необходимости пользоваться методом отсчета колебаний стрелки в обе стороны от нулевого положения и подсчитывать среднее арифметическое из этих колебаний. Благодаря воздушным успокоителям (демпферам) стрелка сразу останавливается против соответствующего деления шкалы.

При взвешивании на весах АДВ-200 целые граммы определяются разновесками, помещенными на правую чашку весов, что касается десятичных знаков (после запятой), то десятые доли грамма дают цифры большого лимба, сотые — цифры малого лимба (после зачеркивания нуля), тысячные — большие деления, десятитысячные — малые деления шкалы.

Автоматические весы для экспрессного взвешивания. Новейшие модели аналитических весов представляют одноплечие электромагнитные автоматические весы системы Меттлера. Они обладают чувствительностью до 0,0001 г. Операция взвешивания на таких весах очень проста и занимает не больше 15 сек. Взвешиваемый предмет помещают на чашку весов, закрывают дверцу, включают весы и через 10—15 сек. на шкале весов появляются цифры, указывающие вес предмета. Взвешивание на таких весах исключает ошибку, зависящую от работающего.

Автоматические одноплечие весы ВАО-200 очень просты в работе. Взвешивание на них полностью автоматизировано и производится без разновеса. Передний штурвал (арретир) весов предназначен для их включения. Боковыми лимбами подбирают разновески. Показания веса появляются на табло.

Кроме весов АДВ-200 и ВАО-200, завод «Госметр» (Ленинград) выпускает весы А-200. По своей конструкции они равноплечие, одnochашечные. Наложение разновесок полностью механизировано. Показания отсчитывают по счетчику и оптической шкале, рассчитанной на 100 мг и снабженной нониусом. Отсчет 3 и 4-го десятичных знаков делают по нониусу, цена одного деления которого составляет 0,1 мг. Цена одного деления шкалы — 1 мг.

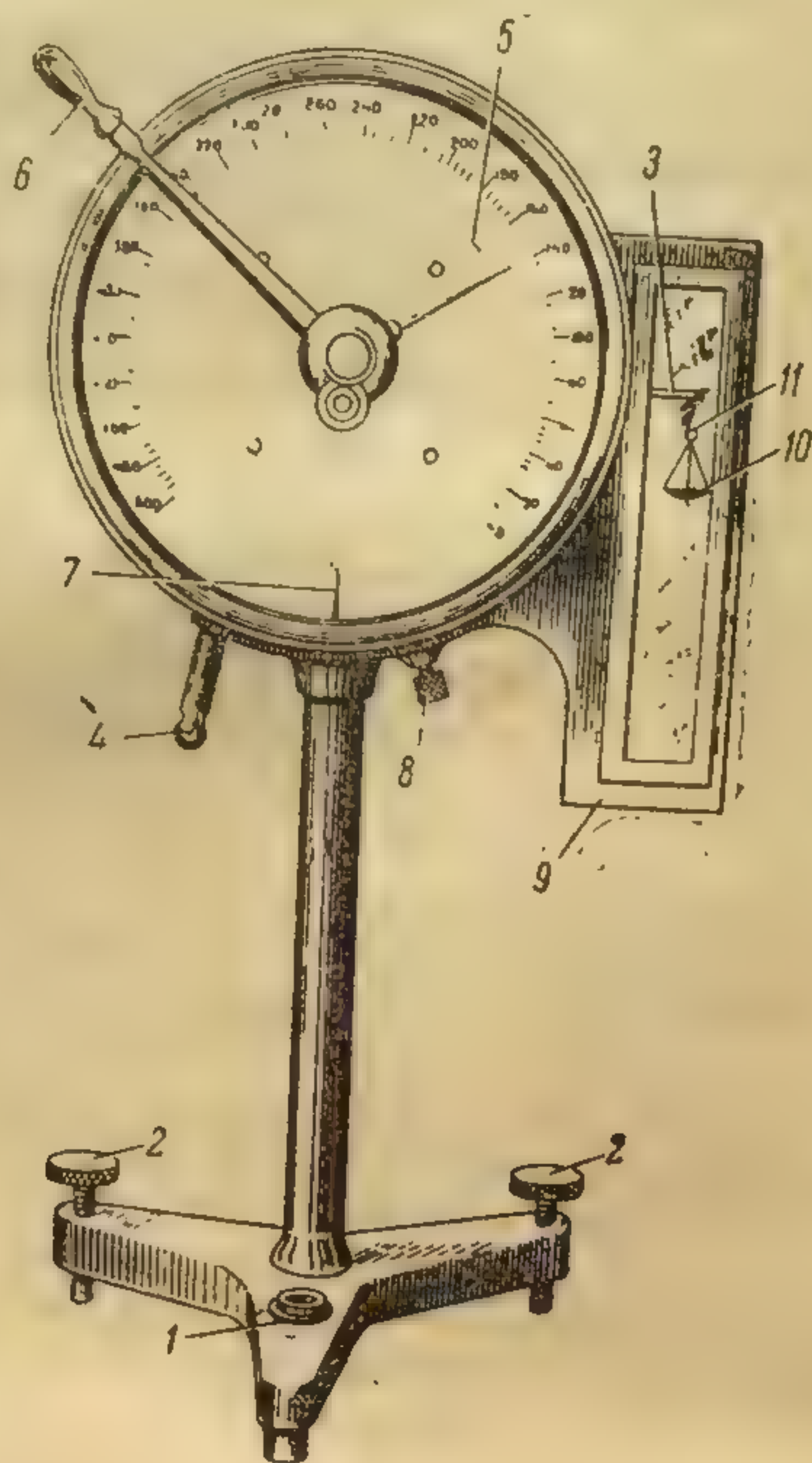
Торзионные весы. При массовых взвешиваниях, когда требуется быстро определить вес пакетика или малой навески, очень удобно пользоваться торзионными весами, в основе работы которых лежит принцип деформации плоской спиральной пружины.

При взвешивании на этих весах не нужны разновесы: вес находят непосредственно на шкале. Точность взвешивания ± 1 мг, общая нагрузка — до 0,5 г.

Установка весов производится следующим образом. С помощью винтов 2 (рис. 25) и уровня 1 добиваются строго горизонтального положения весов. Затем открывают крышку 9 и снимают чашку 10 с крючка 11, освобождают коромысло 3, передвигая вправо рычаг арретира 4, а указатель веса 5 рычагом натяжения 6 устанавливают на нуль шкалы. После этого, вращая корректор 8, необходимо добиться совмещения указателя равновесия 7 с чертой. Добившись этого, закрепляют коромысло 3 передвижением рычага арретира 4 влево до упора.

Установив весы, приступают к взвешиванию. Предмет помещают на крючок 11 коромысла и закрывают крышку 9 весов. Далее передвигают арретир 4 вправо до упора и поворачивают

вают рычаг 6 до совмещения с чертой указателя равновесия 7. Указатель 5 покажет на шкале вес предмета. После этого арретир 4 передвигают влево и снимают с крючка взвешенный предмет, заменяя его следующим.



Р и с. 25. Торзионные весы

При взвешивании отдельных зерен или других мелких предметов их помещают на чашку весов. В этом случае при установке весов снимать чашку с крючка не надо.

ПОРЯДОК РАБОТЫ В ЛАБОРАТОРИИ

1. Работать в лаборатории разрешается только после хорошей предварительной подготовки. Исследователь-лаборант должен прочитать в руководствах материал, относящийся к данной теме. Необходимо научиться писать уравнения соответствующих реакций, производить необходимые расчеты, знать, как действует тот или иной прибор, какие опыты опасны, какие вещества ядовиты, взрывчаты и т. д. Исследователю-лаборанту должна быть ясна цель работы и план ее выполнения.

2. В лаборатории каждому работающему отводится постоянное место (рабочий стол), поддерживаемое в полной чистоте и порядке. На лабораторных столах должны находиться только те предметы, которые нужны в данное время для работы.

3. Необходимые для работы реактивы выставляются на полки, находящиеся над лабораторными столами, или же на специальные полки. Исключение составляют концентрированные кислоты и пахучие вещества, которые хранятся в вытяжных шкафах.

4. Сухие реактивы требуется брать чистым шпателем или специальной ложечкой. При наливании растворов из склянок следует держать последние таким образом, чтобы этикетка была повернута вверх (во избежание загрязнения).

5. Если в руководстве не указано, какое количество вещества необходимо взять для проведения в пробирке того или иного опыта, предлагается брать сухое вещество в количестве, закрывающем дно пробирки, а раствор — не более $\frac{1}{6}$ ее объема.

6. Крышки и пробки от банок и склянок нужно класть на стол поверхностью, не соприкасающейся с реактивом.

7. Все работы с вредными или пахучими веществами проводить в вытяжном шкафу.

Рабочий журнал. Все наблюдения и выводы по экспериментальной работе заносятся в рабочий журнал, являющийся документом, который отражает всю работу. Записи в журнале производятся только чернилами, лаконично, аккуратно, непосредственно после проведения опыта. В журнале должны записываться все исходные данные для расчетов.

Меры предосторожности при работе в лаборатории. 1. Все опыты с ядовитыми, неприятно пахнущими веществами, а также упаривание кислот и кислых растворов производить в вытяжном шкафу.

2. При работе с металлическим натрием и другими щелочными металлами остерегаться воды.

3. Опыты с легко воспламеняющимися веществами необходимо производить вдали от огня.

4. При нагревании растворов в пробирке всегда следует держать ее таким образом, чтобы отверстие было направлено в сторону от работающего или его соседей по рабочему столу. Это особенно важно соблюдать в тех случаях, когда нагреваемой жидкостью являются концентрированные кислоты или растворы щелочей.

5. Не наклонять лицо над нагреваемой жидкостью или оплавляемыми веществами, чтобы брызги не попадали на лицо.

6. Не следует вдыхать пахучие вещества, в том числе и выделяющиеся газы, близко наклоняясь к сосуду с этими веществами; необходимо легким движением руки направить струю воздуха от отверстия сосуда к себе и осторожно вдохнуть.

7. При работе с твердыми щелочами (измельчение крупных кусков, наполнение щелочью осушительных колонок, приготовление смесей для сплавления и т. д.) обязательно надевать защитные очки. Брать щелочь разрешается только щипцами или пинцетом. Необходимо тщательно убирать остатки щелочи с рабочего места.

8. При разбавлении концентрированных кислот, особенно серной, вливать кислоту в воду, а не наоборот.

9. Работу с ртутью производить над специальными противнями с высокими стенками.

10. Остатки соединений ртути, мышьяка, цианидов металлов, а также соединений редких и ценных металлов сливать в особые банки.

11. Стеклянные приборы, содержащие остатки белого или красного фосфора, перед мытьем опускать в ванны, наполненные раствором сернокислой меди.

Оказание первой помощи в лаборатории. 1. При попадании на кожу (рук, лица и т. д.) концентрированных кислот (серной, азотной, уксусной и др.) следует немедленно промыть сильной струей воды обожженное место в течение 3—5 мин., после чего наложить повязку из ваты, смоченной спиртовым раствором танина или 3%-ным раствором перманганата калия. При сильных ожогах после оказания первой помощи обратиться немедленно к врачу.

2. При ожоге растворами щелочей промывать водой обожженный участок кожи до тех пор, пока не перестанет быть скользкой на ощупь, после чего наложить повязку из спиртового раствора танина или 3%-ного раствора перманганата калия.

3. При попадании брызг кислоты или щелочи в глаза, немедленно промыть поврежденный глаз большим количеством воды комнатной температуры, после чего сейчас же обратиться к врачу.

4. При ожоге кожи горячими предметами (стекло, металлы и т. п.) наложить сначала повязку из спиртового раствора танина или раствора перманганата калия, а затем жирную повязку (мазь от ожогов).

5. При ожогах фосфором необходимо наложить на обожженное место повязку, смоченную 2%-ным раствором сернокислой меди.

6. При отравлении хлором, бромом, сероводородом, окисью углерода необходимо вывести пострадавшего на воздух.

7. При отравлении соединениями мышьяка и ртути, а также цианистыми соединениями, немедленно обратиться к врачу.

РАСТВОРЫ И ИХ ПРИГОТОВЛЕНИЕ

БОЛЬШИНСТВО химических реакций проводят в растворах. Особенное значение они имеют при проведении анализов и в частности — объемных, где все определения основаны на применении точных растворов, т. е. растворов, в единице объема которых содержится точно определенное количество вещества. Поэтому необходимо хорошо знать, как рассчитать раствор, приготовить его, как с ним работать, а также как хранить растворы в течение продолжительного времени.

Для того чтобы приготовить раствор, необходимо иметь растворимое вещество и растворитель. В большинстве случаев растворителем служит вода. Растворимым веществом может быть твердое вещество, жидкость и газ.

Насыщенные растворы. Насыщенным называется раствор, в котором уже больше не растворяется взятое вещество при определенной температуре и давлении. Количество вещества, содержащееся в единице объема насыщенного раствора, определяет собою растворимость вещества в данном растворителе. Различные вещества обладают разной растворимостью в том или ином растворителе. Обычно растворимость твердого вещества увеличивается с повышением температуры. Так, в 100 мл воды при 0° растворяется всего 13,3 г азотнокислого калия, а при 100° — 246 г. Есть вещества, растворимость которых почти не изменяется с температурой. К ним относится поваренная соль: при 0° в 100 мл воды растворяется 35,7 г соли, при 100° — 39,1. Растворимость некоторых веществ даже уменьшается с повышением температуры. Например, растворимость соды повышается только при нагревании до 35,2°, при дальнейшем же нагревании — уменьшается. Каждой температуре соответствует определенная растворимость данного вещества, и, следовательно

но, насыщенный раствор устойчив только при данной температуре. Если растворимость вещества при охлаждении понижается, то избыток его выпадает в виде осадка до тех пор, пока раствор не станет насыщенным при этой новой температуре. Свойство веществ выкристаллизовываться при охлаждении раствора используют для их очистки методом перекристаллизации.

При растворении некоторых веществ часто выделяется большое количество тепла (растворение концентрированной серной кислоты, едкого натра). При растворении наблюдается и поглощение тепла, когда раствор заметно охлаждается (растворение азотнокислого аммония, хлористого калия).

Растворимость жидкостей. Различные жидкости растворяются в других жидкостях также по-разному. О них обычно говорят: смешиваются они или нет. Все жидкости можно разделить на три большие группы:

1) жидкости, практически нерастворимые одна в другой, например вода и минеральное масло;

2) жидкости, растворимые одна в другой только в определенных соотношениях, например вода и этиловый эфир;

3) жидкости, растворимые одна в другой в любых соотношениях, например этиловый спирт и вода.

Так же, как при растворении твердых веществ, при смешивании жидкостей наблюдается выделение или поглощение тепла.

Особенно надо обратить внимание на смешивание серной кислоты с водой. Если наливать воду в серную кислоту, то температура повышается настолько, что часть воды может закипеть, а ее пары — выбросить кислоту из сосуда. От сильного разогревания может лопнуть сосуд, а это приведет к несчастным случаям: ожогам, порче одежды. Поэтому нужно соблюдать большую осторожность: прибавлять можно только серную кислоту к воде, но не наоборот, тонкой струйкой, постоянно помешивая и давая остывать сосуду.

При смешивании жидкостей иногда происходит уменьшение объема, так называемая контракция. Пример. 50 объемов этилового спирта, смешанные с 50 объемами воды, дают не 100 объемов смеси, а только 96,3.

Растворимость газов. Газы также неодинаково растворяются в воде и других растворителях. Растворимость их сильно понижается с повышением температуры. Этим свойством пользуются в лабораториях для получения дистиллированной воды, не содержащей углекислого газа, кипячением ее в течение некоторого времени, и для отгонки аммиака при определении азота.

КЛАССИФИКАЦИЯ РАСТВОРОВ

В зависимости от характера растворителя различают водные и неводные растворы. К неводным относятся растворы, полученные с использованием органических растворителей, таких, как спирты, эфиры, ацетон, бензол, бензин, четыреххлористый угле-

род и др. Растворы большинства солей, щелочей и кислот готовятся, главным образом, водные.

По точности выражения концентрации растворы делят на приближенные, точные и эмпирические.

Концентрация растворов. Концентрация раствора — это содержание растворенного вещества в определенном количестве раствора или растворителя. Она может быть выражена: 1) в весовых процентах (% вес); 2) в объемных процентах (% об.); 3) в граммах в 1 л раствора (г/л); 4) моляльностью, в грамм-молекулах (молях) на 1 кг растворителя; 5) молярностью, в грамм-молекулах в 1 л раствора (г-мол/л или М); 6) нормальностью, в грамм-эквивалентах в 1 л раствора (г-экв/л или н.); 7) титром раствора.

Процентным называется раствор, содержащий определенное количество частей растворенного вещества в 100 частях раствора. Концентрация, выраженная в весовых процентах, определяется количеством граммов вещества, содержащегося в 100 г раствора. **Пример.** 5%-ный раствор хлористого калия содержит 5 г KCl в 100 г раствора.

Концентрация, выраженная в объемных процентах (обычно для растворов жидких веществ), определяется количеством объемных единиц растворенного вещества в 100 объемных единицах раствора. **Пример.** 60%-ный раствор этилового спирта содержит 60 мл спирта в 100 мл раствора.

Моляльным называется раствор, содержащий одну грамм-молекулу растворенного вещества в 1 кг растворителя. **Пример.** моляльный раствор KCl содержит одну грамм-молекулу KCl (74,56 г) в 1 кг воды.

Молярным называется раствор, в литре которого содержится одна грамм-молекула (1 моль) растворенного вещества. **Пример.** молярный раствор едкого натра в 1 л содержит 40,0 г NaOH, молярный раствор сернокислого натрия — 146,02 г Na₂SO₄ и т. д. Если в 1 л раствора содержится 2, 3, 4, 5 грамм-молекул, растворы соответственно называются двух-, трех-, -четырёх- и пятимолярными. При содержании в литре 0,1, 0,01 и 0,001 грамм-молекулы растворы называются деци-, санти- и миллимолярными. **Пример.** четырехмолярный (4М) раствор соляной кислоты содержит в литре 146,0 г HCl, децимолярный раствор KCl — 7,46 г, сантимольный — 0,746 г и миллимолярный — 0,0746 г KCl.

Нормальным называется раствор, в 1 л которого содержится один грамм-эквивалент растворенного вещества. Если в 1 л содержится 2, 3, 4 и т. д. грамм-эквивалента, растворы соответственно будут двух-, трех-, четырехнормальными. При содержании в литре раствора долей грамм-эквивалента, например 0,1, 0,01, 0,001, они называются деци-, санти-, миллинормальными. **Пример.** двунормальный (2н) раствор хлористого аммония содержит 2 грамм-эквивалента NH₄Cl, т. е. $2 \times 53,5 =$

107,0 г; децинормальный (0,1 н) — 5,35 г; санинормальный (0,01 н) — 0,535 г и миллинормальный (0,001 н) — 0,535 г NH_4Cl в литре.

Растворы слабее миллинормальных в аналитической практике почти не применяются ввиду их неустойчивости и трудности установки их точной концентрации (титра).

Стандартным или образцовым называется раствор, 1 мл которого содержит определенное количество растворенного вещества, выраженное в граммах, чаще в миллиграммах. Такие растворы применяются в физико-химических методах анализа — колориметрии, электрофотоколориметрии, полярографии и т. д. **Пример.** Для построения калибровочной кривой при электрофотоколориметрическом определении фосфора в кормах используется стандартный раствор KH_2PO_4 , в 1 мл которого содержится 0,01 мг фосфора.

Эмпирическими называют растворы с произвольной, но точно известной концентрацией, которая не находится в зависимости ни от молекулярного веса, ни от величины грамм-эквивалента, но, отвечая определенному количеству анализируемого вещества, очень удобна для вычислений. Их концентрация подбирается так, чтобы одному миллилитру раствора, израсходованному на титрование, соответствовала единица концентрации определяемого вещества, например 0,01, 0,1%, и т. д. Работа с ними не требует никаких вычислений: число израсходованных миллилитров эмпирического раствора без всяких вычислений показывает число граммов или миллиграммов во взятом для анализа объеме раствора.

В зависимости от вида работы приходится готовить растворы различной концентрации. Кроме того, для одних работ концентрацию раствора необходимо знать точно, а для других — приблизительно. Так, при объемном анализе для титрования применяют растворы точной концентрации, что касается осаждения, промывания осадка и других аналитических операций, то в таких случаях применяют растворы, концентрация которых известна лишь приблизительно.

Для приготовления точного раствора навеску вещества отвешивают на аналитических весах, а объем раствора доводят до метки в мерной колбе. Для приготовления приближенного раствора навеску вещества отвешивают на техно-химических весах, а объем отмеривают мерным цилиндром. Очень часто сначала готовят раствор с концентрацией примерно равной заданной, а затем точно устанавливают ее, пользуясь объемным или весовым методом анализа.

Титрованные растворы. Титром раствора называется содержание растворенного вещества в 1 мл, выраженное в граммах или миллиграммах. Выражение концентрации через титр в настоящее время применяют редко, но различные термины, являющиеся производными от этого слова, сохранили свое

значение. Процесс приливания одного раствора, находящегося в бюретке, к другому раствору для определения концентрации одного из них (при известной концентрации другого) называется **титрованием**. В объемном анализе всякий раствор с точно известной концентрацией называется **титрованным** (т. е. раствором с определенным титром), хотя концентрацию выражают обычно нормальностью раствора.

ТЕХНИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРОВ

Скорость растворения твердого вещества зависит от степени его измельчения: чем тоньше измельчено вещество, тем оно быстрее растворяется. Для приготовления раствора следует применять только чистые растворители. Если растворителем служит вода, то можно применять только дистиллированную воду, а в отдельных случаях даже бидистиллят, т. е. дважды перегнанную воду.

Посуда, в которой готовят и хранят раствор, должна быть подобрана соответственно заданному объему раствора. Так, если нужно приготовить 1 л какого-либо раствора, следует взять посуду емкостью не больше 1,5 л. Если готовят 10 л раствора, берут бутыл на 12—13 л. Затем к бутылки подбирают пробку, поглотительные трубки, сифоны и т. д. Подготовленную таким образом посуду следует тщательно вымыть. Ее можно не сушить, если готовятся водные растворы, достаточно после ополаскивания дистиллированной водой дать избытку ее стечь, перевернув посуду вниз горлом.

Приготовление приближенных растворов. При растворении твердых веществ, кроме твердых едких щелочей, в приготовленную посуду переносят отвешенное количество реактива. Если приходится переносить навеску реактива в узкогорлую посуду (мерные колбы), то это следует делать через воронку, многократно смывая реактив дистиллированной водой в посуду. Затем прибавляют примерно на половину объема колбы воду и растворяют реактив, после чего раствор доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

При приготовлении процентных растворов, навеску помещают в приготовленную для растворения посуду (стакан или колбу) и необходимое количество воды отмеривают цилиндром. Одну треть или половину отмеренной воды используют для растворения навески, а затем прибавляют остальное количество воды. Раствор тщательно перемешивают, несколько раз им споласкивают посуду, предназначенную для хранения раствора, и затем выливают туда раствор.

Приготовление растворов едких щелочей и кислот требует особого внимания и осторожности. При растворении едких щелочей отвешенное количество твердого едкого натра или едкого кали помещают в фарфоровую чашку или фарфоровый стакан,

но не в стеклянную посуду, и заливают небольшим количеством воды. Например, если было взято 100 г едкого натра, то прибавляют приблизительно 200 мл воды. При этом раствор сильно разогревается. По этой причине нельзя для растворения едких щелочей применять толстостенную стеклянную посуду, так как она может лопнуть. Время от времени смесь необходимо перемешивать до полного растворения щелочи. После остывания раствор переливают в склянку и прибавляют рассчитанное количество воды.

В случае приготовления растворов кислот, рассчитанное количество кислоты не взвешивают, а отмеривают мерным цилиндром. Когда растворяют концентрированные кислоты, особенно серную кислоту, отмеренное их количество выливают в сосуд с водой не сразу, а частями, в несколько приемов, и после каждого прибавления раствор перемешивают.

Когда взятое вещество растворится полностью, полученный раствор, при наличии мути, следует отфильтровать.

Концентрацию приготовленного раствора, если это является необходимым, проверяют титрованием или другими аналитическими методами.

Приготовление точных растворов. Сравнительно небольшой объем точного раствора готовят в мерной колбе соответствующей емкости. Исходя из ее объема, производят и расчеты навески реактива. Навеску отвешивают на аналитических весах, на часовом стекле или в бюксе. Затем в колбу вставляют воронку и в нее переносят навеску, стараясь не просыпать ни одной крупинки. После этого часовое стекло или бюкс тщательно обмывают из промывалки дистиллированной водой над воронкой, не расходуя больших порций воды. Струей воды из промывалки смывают навеску из воронки внутрь мерной колбы и, когда реактив частично растворится, а остальная часть будет смыта в колбу, воронку еще три-четыре раза промывают струей воды и затем воронку удаляют. В колбу, если это окажется необходимым, прибавляют до половины объема воду и, перемешивая содержимое, растворяют навеску. Затем раствор доводят до черты водой, колбу закрывают пробкой и, поворачивая ее раз десять, тщательно перемешивают содержимое.

Большое количество точных растворов приготовить значительно проще. Их готовят так же, как и приближенные растворы, т. е. вещество отвешивают не на аналитических, а на технических весах с точностью до второго знака. Заданный объем отмеривают цилиндром и т. д. Концентрацию приготовленного раствора определяют, устанавливая его титр точным (исходным) раствором, и выражают чаще всего через нормальность.

Время от времени точные растворы необходимо проверять. Дату проверки и результаты отмечают на этикетке.

Точные растворы хранят, соблюдая соответствующие меры

предосторожности, т. е. они должны быть защищены, если это нужно, от действия света и кислорода воздуха. Бутылки (склянки) с растворами плотно закрывают стеклянными притертыми или резиновыми пробками.

Склянки с растворами едких щелочей не следует закрывать притертыми стеклянными пробками, так как щелочи взаимодействуют со стеклом, и пробки сильно «заедает», открыть такую склянку бывает трудно или невозможно.

Приготовление точных растворов из фиксаналов. Для быстрого приготовления точных растворов удобно применять фиксаналы. Это — запаянные стеклянные ампулы, в которых находятся определенные количества реактивов, необходимые для приготовления 1 л 0,1 н. или 0,01 н. раствора.

Они продаются в коробках, содержащих по 10 ампул, на которых имеются надписи, указывающие вещество или раствор и его количество (0,1 или 0,01 г-экв.).



Рис. 26. Приготовление растворов из фиксаналов

Фиксаналы есть жидкие (серная и соляная кислоты, едкие натр и кали) и сухие (щавелевокислый натрий, щавелевая кислота, сода, марганцовокислый калий и др.). К каждой коробке прилагаются специальная воронка, стеклянные боек и палочка с острыми концами.

Для приготовления раствора из фиксанала берут мерную колбу на 1 л, в нее вставляют воронку и боек. Ампулу вставляют в воронку так, чтобы она своим тонким изогнутым дном касалась бойка, затем ее приподнимают и слегка ударяют о конец бойка (рис. 26). После того как в дне ампулы пробьется отверстие, заостренным концом стеклянной палочки пробивают боко-

ное углубление ампулы и дают ее содержимому полностью вытечь или высыпаться. Через боковое отверстие тщательно промывают дистиллированной водой из промывалки внутренние стенки ампулы. Затем тонкой струей воды ополаскивают наружные стенки ампулы над воронкой, боек, внутренние стенки воронки и ее наружную нижнюю часть. Колбу доливают до метки водой, закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

Если в ампуле была сухая соль, то, наполнив колбу до половины водой, добиваются полного растворения и затем уже объем раствора доводят до метки.

Приготовленный из фиксанала раствор служит для установки титра приближенных растворов. Поправка к титру для него равна единице.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРИБЛИЖЕННЫХ РАСТВОРОВ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ

Процентные растворы. Для приготовления определенного количества раствора данной процентной концентрации рассчитывают вначале количество растворяемого вещества, а затем количество растворителя.

А. Приготовление процентных растворов из твердых веществ, не содержащих кристаллизационной воды.

Пример 1. Сколько необходимо взять хлористого калия для приготовления 1 кг 5%-ного раствора?

В 100 г 5%-ного раствора будет содержаться 5 г хлористого калия, а в 1000 г — $5 \times 10 = 50$ г. Количество воды можно найти, если от 1000 г отнять рассчитанное количество KCl: $1000 - 50 = 950$ г. Но так как при обычной температуре удельный вес воды очень мало отличается от единицы, то 950 г приблизительно равны 950 мл воды.

В подготовленную посуду емкостью 1—1,5 л помещают 50 г KCl, 950 мл воды и тщательно перемешивают. Навеску KCl отвешивают на техно-химических весах, объем воды отмеривают мерным цилиндром.

Б. Приготовление процентных растворов твердых веществ, содержащих кристаллизационную воду.

Пример 2. Сколько необходимо взять сульфата натрия $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ и воды для приготовления 500 г 2%-ного раствора Na_2SO_4 ?

В 100 г раствора должно содержаться 2 г, а в 500 г — 10 г Na_2SO_4 . Рассчитаем, сколько следует взять $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, чтобы в нем содержалось 10 г безводного Na_2SO_4 . Находим в таблицах величины грамм-молекул обоих веществ. Грамм-молекула кристаллогидрата $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ составляет 322,2 г, грамм-молекула Na_2SO_4 равна 142,0 г.

Составляем пропорцию:

в 322,2 г $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ содержится 142,0 г Na_2SO_4 ,
 в x г $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ » 10 г Na_2SO_4 ,
 откуда

$$x = \frac{322,2 \cdot 10}{142} = \frac{3222}{142} = 22,7 \text{ г } \text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}.$$

Количество воды равно $500 - 22,7 = 477,3$ мл.

Поскольку мы берем навеску на техно-химических весах, а объем воды измеряем цилиндром, вместо 477,3 мл воды берем ровно 477 мл.

На техно-химических весах отвешиваем 22,7 г $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, помещаем в колбу или склянку емкостью 750—1000 мл и мерным цилиндром прибавляем 477 мл воды. Перемешиваем до полного растворения навески. Получается 500 г 2%-ного раствора Na_2SO_4 . Полученные при расчетах данные следует записывать так: $22,7 \text{ г } \text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O} + 477,3 \text{ мл } \text{H}_2\text{O} = 500 \text{ г } 2\text{-ного раствора } \text{Na}_2\text{SO}_4$.

В. Приготовление процентных растворов жидких веществ.

Пример 3. Какие количества концентрированной серной кислоты удельного веса 1,84 и воды понадобятся для приготовления 1 кг 10%-ного раствора H_2SO_4 ?

Прежде всего по таблице (см. приложения) находим, что удельному весу 1,84 соответствует содержание H_2SO_4 , равное 95,6%. В 100 г 10%-ной кислоты должно содержаться 10 г H_2SO_4 , а в 1000 г — 100 г. Но так как H_2SO_4 удельного веса 1,84 не представляет 100%-ной серной кислоты, то необходимо рассчитать, в каком ее количестве содержится 100 г H_2SO_4 . Составляем пропорцию:

100 г H_2SO_4 уд. в. 1,84 содержат 95,6 г H_2SO_4 ,

x г H_2SO_4 уд. в. 1,84 » 100 г H_2SO_4 ,

откуда

$$x = \frac{100 \cdot 100}{95,6} = \frac{10000}{95,6} = 105,0 \text{ г } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ уд. в. } 1,84.$$

Количество воды находим по разности: $1000 - 105 = 895$ мл.

Так как кислоту не отвешивают (вызывает коррозию деталей весов и, кроме того, раствор готовится как приближенный, с последующей проверкой его концентрации титрованием точным раствором), то отмериваем необходимое количество ее. Рассчитываем объем, занимаемый ею. Для этого вес кислоты (105,0 г) делим на удельный вес (1,84):

$$V = \frac{P}{d} = \frac{105}{1,84} = 57,2 \text{ мл } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ уд. в. } 1,84.$$

Техника приготовления. Берем склянку емкостью 1—1,5 л. Отмериваем мерным цилиндром 895 мл воды. Примерно половину этого объема выливаем в склянку. Мерным цилиндром от-

мериваем 57,2 мл H_2SO_4 уд. в. 1,84 и выливаем тонкой струйкой при помешивании в склянку. Оставшейся водой споласкиваем 2—3 раза цилиндр, которым отмеривали кислоту, и сливаем ее в склянку. Затем выливаем в склянку оставшуюся воду и тщательно перемешиваем раствор.

Пример 4. Рассчитать количества H_2SO_4 уд. веса 1,84 и воды, необходимые для приготовления 2 л 10%-ного раствора серной кислоты.

В таблице находим удельный вес 10%-ной H_2SO_4 . Умножив заданный объем на удельный вес, мы получаем вес 2 л кислоты, т. е. приходим к предыдущим примерам. Теперь наша задача сводится к приготовлению определенного количества раствора в весовом выражении. Производим расчеты.

Вес 2 л 10%-ной H_2SO_4 по формуле $P = V \cdot d = 2000 \times 1,066 = 2132,0$ г.

Находим, какое количество 100%-ной H_2SO_4 должно содержаться в 2132 г 10%-ной серной кислоты:

$$\frac{100 - 10}{2132 - x} \quad x = \frac{2132 \cdot 10}{100} = 213,0 \text{ г.}$$

И дальше: в каком количестве H_2SO_4 уд. в. 1,84 содержится 213 г 100%-ной H_2SO_4 ?

$$\frac{100 - 95,6}{x - 213} \quad x = \frac{213 \cdot 100}{95,6} = 223,0 \text{ г } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ уд. в. 1,84.}$$

Переводим вес кислоты в объем:

$$V = \frac{223}{1,84} = 121,0 \text{ мл.}$$

Находим количество воды: $2000 - 121 = 1879$ мл H_2O .

Техника приготовления раствора описана в примере 3.

Правило диагоналей. Это простой и быстрый метод расчетов при приготовлении растворов.

Пример 5. Приготовить 1 кг 10%-ной соляной кислоты из концентрированной HCl удельного веса 1,19. Как видно из таблицы приложений, такая кислота содержит 37,23% HCl .

Исходная концентрация записывается вверху слева, цифра, отвечающая заданной концентрации, ставится в центре. Из исходной концентрации вычитается заданная концентрация и разность записывается внизу справа, по диагонали, проходящей от исходной концентрации к заданной. По другой диагонали слева внизу ставится нуль, так как вода не содержит HCl . Берется разность между заданной концентрацией и нулем, и результат записывается на другом конце диагонали, вверху справа. По вертикали справа прочитывается результат вычисления, который указывает, какие количества кислоты и воды следует

смешать для получения раствора заданной процентной концентрации. Ответ дается в г, но для воды это будут мл. Что касается используемых для разбавления кислот или других жидкостей, вес следует переводить в объем, если необходимо приготовить заданное количество раствора не в весовом, а объемном выражении.

Для нашего примера форма записи будет иметь следующий вид:

$$\begin{array}{ccc} 37,23 & & 10 \\ & \diagdown & / \\ & 10 & \\ & / & \diagdown \\ 0 & & 27,26 \end{array}$$

Следует заметить, что по верхней горизонтали мы имеем исходную кислоту (HCl уд. в. 1,19), а по нижней горизонтали — воду.

По правой вертикали прочитываем ответ: если смешать 10 г HCl уд. в. 1,19 с 27,23 мл воды, то получим 37,23 г HCl 10%-ной концентрации. От этого количества расчетами по методу пропорций можно найти количества HCl уд. в. 1,19 и воды, необходимые для изготовления заданного количества 10%-ной HCl. Допустим, что необходимо приготовить 1 кг 10%-ной HCl. Составляем пропорцию для расчетов количества HCl уд. в. 1,19 и воды, которые следует смешать для получения 1 кг 10%-ного раствора:

37,23 г 10%-ной HCl содержит 10 г HCl уд. в. 1,19.

1000 г 10%-ной HCl содержит x г HCl уд. в. 1,19,

$$x = \frac{1000 \cdot 10}{37,23} = \frac{10\,000}{37,23} = 269,0 \text{ г HCl уд. в. 1,19.}$$

Количество воды: $1000 - 269 = 731$ мл.

Переводим вес кислоты в объем:

$$V = \frac{269}{1,19} = 226,0 \text{ мл HCl уд. в. 1,19.}$$

Итак, если мы смешаем 731 мл H_2O с 226 мл HCl уд. в. 1,19, то получим 1000 г = 1 кг 10%-ной HCl.

Пример 6. Приготовить 2 л 10%-ной HCl из концентрированной HCl уд. в. 1,19.

Располагаем записи по правилу диагоналей:

$$\begin{array}{ccc} 37,23 & & 10 (8,42) \\ & \diagdown & / \\ & 10 & \\ & / & \diagdown \\ 0 & & 27,23 \end{array}$$

Найденный вес (10 г) HCl уд. в. 1,19 переводим в объем:

$$V = \frac{10}{1,19} = 8,42 \text{ мл.}$$

Суммируем полученные количества HCl уд. в. 1,19 и H_2O :
 $8,42 + 27,23 = 35,65$ мл 10%-ной HCl .

Рассчитываем количество концентрированной соляной кислоты, необходимое для приготовления 2 л 10%-ной HCl :

$$35,65 - 8,42$$

$$2000 - x$$

$$x = \frac{2000 \cdot 8,42}{35,65} = 460,0 \text{ мл. } \text{HCl} \text{ уд. в. } 1,19.$$

Количество воды: $2000 - 460 = 1540$ мл.

Следовательно, 460 мл HCl уд. в. 1,19 + 1540 мл $\text{H}_2\text{O} = 2000$ мл = 2 л 10%-ной HCl .

В лаборатории иногда приходится готовить растворы не разбавлением концентрированных растворов кислот и других реактивов, а путем смешивания двух растворов меньшей и большей концентрации по сравнению с заданной. Понятно, что концентрация такого раствора должна находиться внутри интервала, ограниченного меньшей и большей концентрациями исходных растворов.

Пример 7. В каких соотношениях следует смешать 10%-ный и 2%-ный растворы NaOH для приготовления 1 л 5%-ного раствора?

Записи производят по правилам диагоналей, но слева внизу, в начале второй диагонали мы ставим не нуль, а меньшую концентрацию. Большую исходную концентрацию записываем слева вверху, в начале первой диагонали. Запись имеет следующий вид:

$$\begin{array}{ccc} 10 & & 3 \\ & \diagdown & \diagup \\ & 5 & \\ & \diagup & \diagdown \\ 2 & & 5 \end{array}$$

В предыдущем примере мы вычитали нуль из величины заданной концентрации. Теперь мы вычитаем значение меньшей концентрации (2%). Полученную разность записываем в конце второй диагонали, вверху справа. В прочитанном по правой вертикали ответе получаем: если смешать 3 г 10%-ного с 5 г 2%-ного раствора, мы получаем 8 г 5%-ного раствора NaOH . Если перейти к объемному выражению, то найденные весовые количества следует разделить на соответствующие удельные веса растворов. Из таблицы находим:

$$\begin{array}{ccc} 10 & & 3(2,65) \\ & \diagdown & \diagup \\ & 5 & \\ & \diagup & \diagdown \\ 2 & & 5(4,90) \end{array}$$

удельные веса 10%-ного и 2%-ного растворов NaOH соответственно равны 1,109 и 1,021. Разделив на них найденные весовые количества 3 и 5 г, получим объемы: 2,65 — для 10%-ного и 4,90 — для 2%-ного раствора. Сумма их объемов равна $2,65 + 4,90 = 7,55$ мл. Составляем пропорцию.

7,55 — 4,90 мл 2%-ного раствора.

1000 — x мл 2%-ного раствора.

$$x = \frac{1000 \cdot 4,9}{7,55} = 650,0 \text{ мл. 2\%-ного раствора NaOH.}$$

Количество 10%-ного раствора NaOH находим вычитанием из общего объема раствора: $1000 - 650 = 350$ мл. Итак, для получения 1000 мл или 1 л 5%-ного раствора необходимо смешать 350 мл 10%-ного раствора NaOH и 650 мл 2%-ного раствора NaOH.

Пример 8. Сколько следует взять концентрированной H_2SO_4 уд. в. 1,84 и воды, чтобы получить 2 л кислоты уд. в. 1,20?

Для этого в таблице по удельным весам 1,84 и 1,20 находим отвечающие им процентные концентрации. Они соответственно равны 95,60 и 27,32. Составляем запись по форме диагоналей:

$$\begin{array}{ccc} 95,6 & & 27,32(14,83) \\ & \diagdown & / \\ & 27,32 & \\ & / & \diagdown \\ 0 & & 68,28 \end{array}$$

Найденное количество 95,6%-ной H_2SO_4 переводим в объем делением на удельный вес:

$$\frac{27,32}{1,84} = 14,83 \text{ мл.}$$

Суммируем рассчитанные количества:

14,83 мл H_2SO_4 уд. в. 1,84 + 68,28 мл H_2O

$\text{H}_2\text{O} = 83,11$ мл H_2SO_4 уд. в. 1,20.

Переходим к заданному объему H_2SO_4 уд. в. 1,20:

$$83,11 - 14,83$$

$$2000 - x$$

$$x = \frac{2000 \cdot 14,83}{83,11} = 357,0 \text{ мл } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ уд. в. 1,84.}$$

Количество воды: $2000 - 357 = 1643$ мл.

Следовательно, для того чтобы путем разбавления H_2SO_4 уд. в. 1,84 получить 1 л H_2SO_4 уд. в. 1,20, необходимо смешать 1643 мл воды и 357 мл H_2SO_4 уд. в. 1,84.

Молярные растворы. Молярные растворы используются в различных физико-химических методах анализа: для приготовления «фонов» — в полярографии, буферных растворов — при электрометрическом измерении pH и т. д.

Пример. Приготовить 1 л 0,1 М раствора борной кислоты H_3BO_3 . В справочнике (или прямым подсчетом) находим молекулярный вес H_3BO_3 . Он равен 61,84. В 1 л должно содержаться 0,1 грамм-молекулы, что составляет 6,184 г H_3BO_3 .

Отвешиваем 6,184 г борной кислоты на аналитических весах и через воронку вносим в мерную колбу на 1 л, прибавляем до половины объема воду и растворяем навеску. После этого объем доводим до черты водой и тщательно перемешиваем.

Пример. Приготовить 2 л 2М серной кислоты из H_2SO_4 уд. в. 1,84.

Грамм-молекула H_2SO_4 составляет 98,08 г, две грамм-молекулы — $98,08 \times 2 = 196,16$ г. Необходимо рассчитать, в каком количестве H_2SO_4 уд. в. 1,84 содержится 196,16 г 100%-ной H_2SO_4 . Составляем пропорцию:

$$\begin{array}{r} 100-95,6 \\ x-196,16 \end{array}$$
$$x = \frac{196,16 \cdot 100}{95,6} = 205,0 \text{ г } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ уд. в. } 1,84.$$

Переводим вес кислоты в объем:

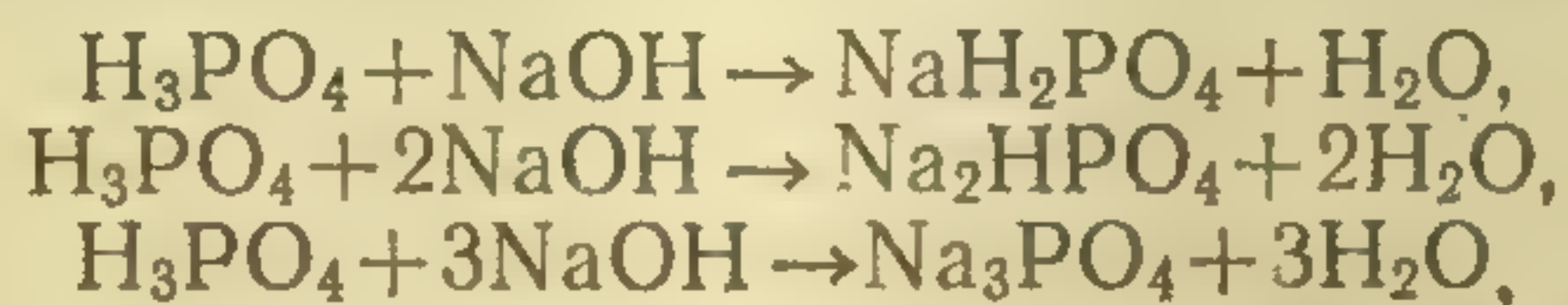
$$V = \frac{205}{1,84} = 111,0 \text{ мл.}$$

Техника приготовления раствора. Берем склянку емкостью 2—3 л. Мерным цилиндром отмериваем в нее 2 л водопроводной воды и отмечаем объем в 2 л восковым карандашом. Затем воду выливаем, тщательно споласкиваем склянку дистиллированной водой и наливаем примерно на одну треть отмеченного объема дистиллированную воду. Мерным цилиндром на 250 мл отмериваем 111 мл концентрированной серной кислоты, тонкой струйкой, при перемешивании, вливаем ее в склянку, даем раствору остыть. После этого приливаем до черты дистиллированную воду и тщательно перемешиваем.

Нормальные растворы. Единицей измерения концентрации нормальных растворов является грамм-эквивалент. Следовательно, для приготовления и расчетов концентраций таких растворов необходимо знать величину грамм-эквивалента растворенного вещества.

Грамм-эквивалент представляет собой такое количество вещества в граммах, которое эквивалентно (равноценно) одному грамм-атому (или грамм-иону) водорода или 8 г кислорода в данной реакции. Грамм-эквивалент является важнейшей величиной в аналитической химии и служит единицей измерения. Это своего рода «химический метр», знание величины которого для данного вещества является необходимым. Грамм-эквивалент не является чем-то неизменным, его величина зависит от характера и особенностей химической реакции, лежащей в основе данного метода анализа.

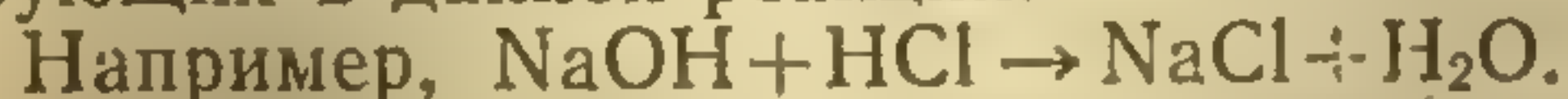
Для нахождения грамм-эквивалента необходимо написать уравнение реакции и определить, сколько граммов данного вещества отвечает в нем одному грамм-атому или грамм-иону водорода. Например, в уравнении $\text{HCl} + \text{NaOH} \rightarrow \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$ грамм-эквивалент HCl равен ее грамм-молекуле, так как именно такое количество HCl дает при реакции один грамм-ион водорода, который взаимодействует с гидроксильным ионом щелочи. Или:



где в первом уравнении грамм-молекула отвечает одному грамм-иону водорода и в данном случае грамм-эквивалент фосфорной кислоты равен ее грамм-молекуле, во втором уравнении грамм-эквивалент H_3PO_4 равен $\frac{1}{2}$ грамм-молекулы и в третьем — $\frac{1}{3}$ грамм-молекулы H_3PO_4 .

Грамм-эквивалент кислоты равен величине ее грамм-молекулы, деленной на число ионов водорода, принимающих участие в данной реакции.

Грамм-эквивалент основания (щелочи) равен величине его грамм-молекулы, деленной на число гидроксильных ионов, участвующих в данной реакции.



Грамм-эквивалент NaOH равен грамм-молекуле, т. е.

$$\text{г-экв.} = \frac{\text{NaOH}}{1}.$$

В уравнении $\text{Ca(OH)}_2 + 2\text{HNO}_3 \rightarrow \text{Ca(NO}_3)_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ грамм-эквивалент Ca(OH)_2 равен $\frac{\text{Ca(OH)}_2}{2}$.

Грамм-эквивалент соли равен величине ее грамм-молекулы, деленной на сумму зарядов (валентностей) ионов металлов, входящих в ее молекулу.

Например, грамм-эквивалент хлористого кальция CaCl_2 равен

$$\frac{\text{CaCl}_2}{2} = \frac{110,99}{2} = 55,50 \text{ г}; \text{грамм-эквивалент хлорного железа}$$

$$\text{FeCl}_3 = \frac{\text{FeCl}_3}{3} = \frac{162,22}{3} = 54,07 \text{ г}.$$

Грамм-эквивалент атома (иона) равен грамм-атому (грамм-иону), деленному на его валентность (заряд).

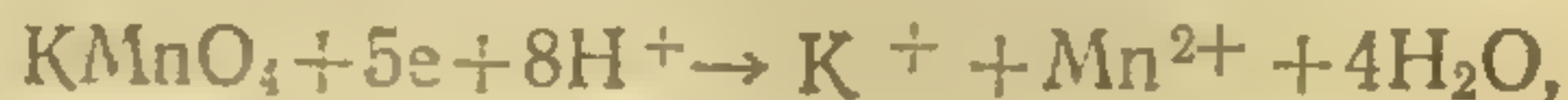
Например, грамм-эквивалент натрия = $\frac{\text{Na}}{1} = 23,0 \text{ г}$; грамм-эквивалент кальция равен $\frac{\text{Ca}}{2} = \frac{40,08}{2} = 20,04 \text{ г}$.

Грамм-эквиваленты окислителей и восстановителей. Сущность окислительно-восстановительных реакций сводится к перераспределению электронов между атомами (или ионами) реагирующих веществ. При этом, поскольку электроны не остаются свободными, атомы окислителя должны получать в общей слож-

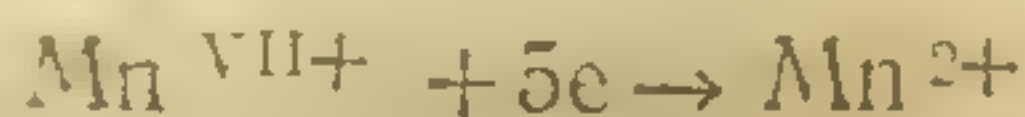
ности равно столько электронов, сколько их отдают атомы восстановителя. Отсюда ясно, что при подсчете величин грамм-эквивалентов окислителей и восстановителей следует исходить из количества электронов, получаемых или отдаваемых одной молекулой реагирующего вещества в данной реакции.

Для примера рассмотрим вычисление величин грамм-эквивалентов таких окислителей, как перманганат калия KMnO_4 и бихромат калия $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, которые применяются в биохимических анализах.

В реакциях окисления в кислой среде семивалентный Mn в KMnO_4 , принимая 5 электронов, переходит в двухзарядный ион Mn^{2+} .



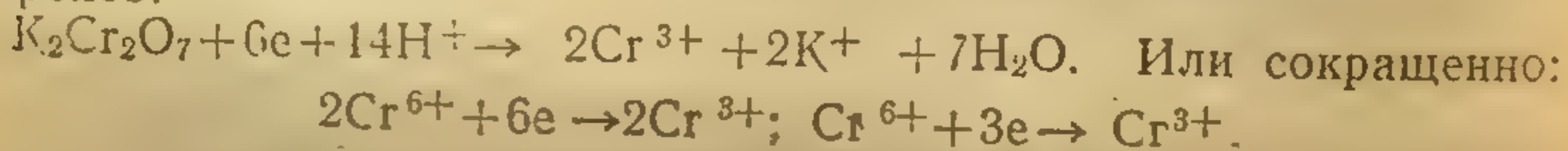
или в сокращенной записи:



При этом, фиолетовая окраска раствора, обусловленная анионом MnO_4^- , переходит в бесцветную, так как ион Mn^{2+} не имеет окраски.

Из уравнения видно, что каждая молекула KMnO_4 (вернее входящий в ее состав $\text{Mn}^{\text{VII}+}$) в кислой среде получает 5 электронов, т. е. столько, сколько их могут отдать 5 атомов водорода. 1 грамм-атому водорода эквивалентна $\frac{1}{5}$ грамм-молекулы KMnO_4 . Следовательно, грамм-эквивалент $\text{KMnO}_4 = \frac{\text{KMnO}_4}{5} = \frac{154,08}{5} = 31,61 \text{ г.}$

В кислой среде шестивалентный хром $\text{Cr}^{\text{VI}+}$ в молекуле бихромата калия принимает 3 электрона и переходит в трехзарядный ион хрома Cr^{3+} . Но так как в молекуле $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ содержится 2 атома хрома, то молекула $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ принимает 6 электронов:



При этом окраска раствора из оранжевой, обусловленной анионом $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, переходит в зеленую от появления в растворе ионов Cr^{3+} .

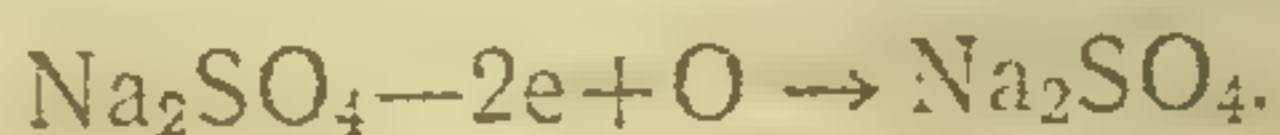
Приведенные уравнения показывают, что грамм-эквивалент бихромата калия равен

$$\frac{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}{6} = \frac{294,22}{6} = 49,03 \text{ г.}$$

Таким образом, грамм-эквивалент окислителя равен его грамм-молекуле, деленной на число электронов, приобретаемых в данной реакции.

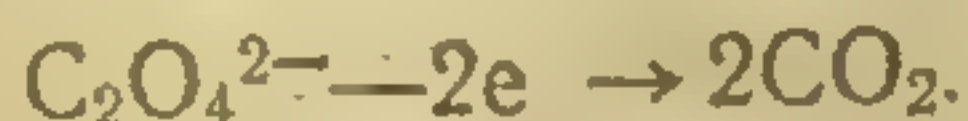
Из восстановителей в биохимических исследованиях находят применение сульфит натрия, хлористое олово, гидрохинон, щавелевая кислота.

В реакциях восстановления содержащийся в сульфите натрия атом серы, имеющий 4 положительных заряда, отдает еще 2 электрона, превращаясь в 6-валентный атом серы:



Или $\text{S}^{\text{IV}} - 2e \rightarrow \text{S}^{\text{VI}}$.

Рассмотрим еще восстановительное действие щавелевой кислоты, вернее ее аниона $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$



Из этих примеров видно, что грамм-молекуле Na_2SO_3 эквивалентны 2 грамм-атома водорода. Следовательно, грамм-эквивалент сульфита натрия равен $\frac{\text{Na}_2\text{SO}_3}{2} = \frac{126,06}{2} = 63,03$ г.

Грамм-эквивалент щавелевой кислоты также равен половине ее грамм-молекулы, т. е.

$$\frac{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}}{2} = \frac{126,07}{2} = 63,04 \text{ г.}$$

Необходимо заметить, что при вычислении грамм-эквивалента в случае кристаллогидрата учитывается общий молекулярный вес вместе с кристаллизационной водой.

Итак, мы установили, что грамм-эквивалент восстановителя равен величине его грамм-молекулы, деленной на число электронов, отдаваемых восстановителем в данной реакции.

Растворы и приготовление приближенных нормальных растворов. Пример 1. Приготовить 1 н раствор хлористого калия. Молекулярный вес KCl равен 74,56. Грамм-эквивалент KCl равен $\frac{\text{KCl}}{1} = \frac{74,56}{1} = 74,56$ г, т. е. равен его грамм-молекуле.

На технохимических весах отвешиваем 74,56 KCl и через воронку переносим в мерную колбу на 1 л, наливаем до половины объема дистиллированную воду, перемешиваем до растворения навески, доливаем до черты воду и тщательно перемешиваем. Получается приближенный 1 н раствор KCl , точная концентрация которого устанавливается посредством исходного точного титрованного раствора.

Пример 2. Приготовить 0,1 н раствор тетраборнокислого натрия (буры)

$$\frac{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}}{2} = \frac{381,42}{2} = 190,71 \text{ г.}$$

Нам необходимо навеску в 0,1 грамм-эквивалента, что составляет 19,071 г.

Поскольку мы готовим приближенный раствор, навеску можно отвесить на технохимических весах.

Пример 3. Приготовить 0,1 н серную кислоту из концентрированной H_2SO_4 уд. в. 1,84.

Грамм-эквивалент серной кислоты равен $\frac{\text{H}_2\text{SO}_4}{2} = \frac{98,0}{2} = 49,0$ г. 0,1 грамм-эквивалент составляет 4,9 г H_2SO_4 .

Теперь необходимо рассчитать, сколько следует взять концентрированной H_2SO_4 уд. в. 1,84, чтобы в ней содержалось 4,9 г 100%-ной H_2SO_4 . Из таблицы находим, что H_2SO_4 уд. в. 1,84 содержит 95,6% H_2SO_4 . Составляем пропорцию:

$$\begin{array}{r} 100-95,6 \\ x-4,9 \end{array}$$
$$x = \frac{4,9 \cdot 100}{95,6} = 5,13 \text{ г } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ уд. в. 1,84.}$$

Переводим вес кислоты в объем:

$$V = \frac{P}{d} = \frac{5,13}{1,84} = 2,8 \text{ мл.}$$

Берем мерную колбу на 1 л, наливаем в нее примерно на $\frac{1}{3}$ объема дистиллированной воды. Мерным цилиндром на 10 мл отмериваем 2,8 мл концентрированной H_2SO_4 и выливаем в мерную колбу. Цилиндр 2—3 раза споласкиваем водой, сливаем в колбу, а затем раствор в колбе доливаем до черты дистиллированной водой и тщательно перемешиваем.

Пример 4. Приготовить 4 л 0,1 н раствора HCl из соляной кислоты уд. в. 1,19 (концентрированной).

Соляная кислота уд. в. 1,19, как это видно из таблицы, содержит 37,23% HCl .

Грамм-эквивалент HCl равен грамм-молекуле, т. е. 36,5 г, 0,1 грамм-эквивалента составляет 3,65 г. Так как нам необходимо приготовить 4 л 0,1 н раствора, то потребуется $3,65 \times 4 = 14,60$ г HCl .

Составляем пропорцию:

$$\begin{array}{r} 100-37,23 \\ x-14,6 \end{array}$$
$$x = \frac{14,6 \cdot 100}{37,23} = 39,3 \text{ г } \text{HCl} \text{ уд. в. 1,19.}$$

Переводим весовые единицы в объемные:

$$V = \frac{39,3}{1,19} = 33,0 \text{ мл.}$$

Берем бутылку на 5 л. Мерным цилиндром на 1 л отмериваем в нее 4 л водопроводной воды и отмечаем восковым карандашом черту (по нижнему мениску), отвечающую объему в 4 л. Выливаем воду, тщательно споласкиваем бутылку дистиллированной водой. Затем наливаем примерно 1 л дистиллированной воды, отмериваем мерным (на 50 мл) цилиндром 33 мл концентрированной соляной кислоты и выливаем в бутылку, после чего раст-

вор в бутылки доливаем до черты, т. е. до 4 л, дистиллированной водой и тщательно перемешиваем. Точная концентрация полученной приближенной 0,1 н соляной кислоты устанавливается посредством титрованного раствора едкого натра.

Пример 5. Приготовить 1 л 0,1 н раствора перманганата калия.

Молекулярный вес KMnO_4 равен 158,04, грамм-эквивалент его составляет $\frac{\text{KMnO}_4}{5} = \frac{158,04}{5} = 31,61$ г, а 0,1 грамм-эквивалента — 3,161 г.

На аналитических весах отвешивают 3,161 г KMnO_4 и помещают в мерную колбу на 1 л. Приливают на половину объема дистиллированной воды и при тщательном перемешивании добиваются полного растворения навески (перманганат растворяется медленно). Раствор доводят до черты дистиллированной водой, тщательно перемешивают и переливают в склянку из темного или оранжевого стекла. Установку титра производят щавелевой кислотой не раньше, чем через 5—6 дней после приготовления раствора. За это время окислятся все случайные органические примеси, оказавшиеся в воде, а образовавшаяся двуокись марганца, MnO_2 , осядет на дно склянки.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ТИТРОВАННЫХ РАСТВОРОВ

Титрованные растворы могут быть приготовлены двумя способами.

По первому способу точную навеску вещества помещают в мерную колбу, растворяют и доводят объем до метки дистиллированной водой. Зная содержание вещества в определенном объеме, не трудно рассчитать его титр, разделив навеску на объем колбы в миллилитрах. Еще более удобным и быстрым способом является приготовление титрованных растворов из фиксанадов (см. стр. 45).

Однако этим способом можно готовить титрованные растворы далеко не всех веществ, а только совершенно чистых, точно соответствующих определенной химической формуле и устойчивых при хранении. Это так называемые исходные вещества, с помощью которых устанавливаются титры приближенных растворов.

Большая часть веществ не удовлетворяет перечисленным требованиям и растворы их готовятся так: вначале готовят раствор приближенной нормальности, а затем его титр устанавливается с помощью исходных титрованных растворов (или растворов с установленным титром).

Наиболее распространенными веществами, из которых готовят исходные титрованные растворы, являются сода Na_2CO_3 (безводная), бура $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, янтарная кислота $\text{H}_6\text{C}_4\text{O}_4$, щавелевая кислота $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Приготовление исходных титрованных растворов на основе указанных веществ разберем на конкретных примерах.

Пример 1. Приготовить 1 л 0,1 н раствора соды Na_2CO_3 .

Для этого химически чистую соду, содержащую кристаллизационную воду, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, нагревают в фарфоровом тигле на песчаной бане при температуре, не превышающей 300° . Время от времени содержимое тигля перемешивают, чтобы не допустить спекания соды. Через 2—3 часа из соды удалится кристаллизационная вода и ее состав будет точно отвечать формуле Na_2CO_3 . Готовую соду помещают в бюкс, закрывают крышкой и хранят в эксикаторе.

Молекулярный вес соды Na_2CO_3 равен 106, грамм-эквивалент составляет $\frac{106}{2} = 53$ г, 0,1 грамм-эквивалента — 5,3 г. На аналитических весах отвешивают 5,3 г соды и переносят без потерь в мерную колбу на 1 л. Затем прибавляют 200—250 мл дистиллированной воды, растворяют навеску, раствор доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Пример 2. Приготовить 0,1 н раствор буры $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Для получения буры, состав которой точно отвечает указанной формуле, реактив квалификации ч. д. а. или х. ч. подвергают перекристаллизации. В нагретой до $50—60^\circ$ дистиллированной воде растворяют буру до насыщения. Раствор фильтруют через складчатый бумажный фильтр в колбу, которую охлаждают затем холодной водой до температуры $10—15^\circ$, для того чтобы осадок выпадал в виде мелких кристаллов. Кристаллы буры отфильтровывают, промывают на фильтре небольшими порциями холодной дистиллированной воды и просушивают между листами фильтровальной бумаги, которые меняют до тех пор, пока кристаллы не будут прилипать к стеклянной палочке. Перекристаллизованную буру хранят в стеклянной баночке с пришлифованной пробкой.

Молекулярный вес буры 381,42; грамм-эквивалент равен $\frac{381,42}{2} = 190,71$ г; 0,1 грамм-эквивалента — 19,071 г.

Навеску буры отвешивают на аналитических весах (можно и на теххимических 1 класса) и готовят раствор в мерной колбе на 1 л.

Пример 3. Приготовить 0,1 н раствор янтарной кислоты $\text{H}_6\text{C}_4\text{O}_4$.

Имеющуюся в лаборатории янтарную кислоту квалификации ч. д. а. или х. ч. перекристаллизовывают из горячей воды и высушивают между листами фильтровальной бумаги (точно так же, как буру).

Молекулярный вес янтарной кислоты 118,09; грамм-эквивалент $\frac{118,09}{2} = 59,04$ г; 0,1 грамм-эквивалента — 5,904 г. На-

веску отвешивают на аналитических весах, растворяют и доводят до метки в мерной колбе на 1 л.

Пример 4. Приготовить 0,1 н раствор щавелевой кислоты $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Щавелевая кислота непрочна удерживает воду. Поэтому для приготовления раствора рекомендуется пользоваться свежеперекристаллизованной кислотой или хранившейся не больше месяца.

Щавелевую кислоту перекристаллизовывают из горячей воды, сушат с помощью фильтровальной бумаги и хранят в стеклянной банке с притертой пробкой.

Молекулярный вес щавелевой кислоты 126,05; грамм-эквивалент $\frac{126,05}{2} = 63,02$; 0,1 грамм-эквивалента — 6,302 г. Необходимо отметить, что грамм-эквивалент щавелевой кислоты как восстановителя тоже равен 63,02 г.

Взвешивание навески (6,302 г) производят на аналитических весах. Для приготовления раствора берут мерную колбу на 1 л.

УСТАНОВЛЕНИЕ ТИТРА РАСТВОРОВ

Как уже указывалось, исходные титрованные растворы можно приготовить лишь из очень ограниченного числа веществ, которые удовлетворяют необходимым требованиям, предъявляемым для приготовления точных растворов. Минеральные кислоты, едкие щелочи и большинство солей этим требованиям не удовлетворяют, и из них можно приготовить только приближенные нормальные растворы. Затем их титр устанавливают посредством точных исходных растворов. На основе результатов титрования рассчитывают поправочный коэффициент K , на который каждый раз умножают израсходованный при титровании объем раствора, чтобы привести его к объему заданной нормальности.

В методиках различных анализов всегда приводятся титры рабочих растворов по определяемому веществу для таких нормальностей: 0,5; 0,2; 0,1; 0,05; 0,02; 0,01; 0,005; 0,002 и 0,001 н. Например, в методике определения общего азота в кормах указывается, что 1 мл 0,1 н H_2SO_4 , израсходованный на связывание аммиака, эквивалентен 1,4 мг азота. В методике определения кальция приводится титр 0,05 н раствора KMnO_4 по кальцию, равный 1 мг Са и т. д. Но выше мы указывали, что только небольшое количество веществ пригодно для приготовления растворов точно заданной нормальности. Поэтому приходится готовить растворы приближенной нормальности, но в расчетах всегда фигурирует заданная нормальность, к которой имеется поправка к титру — K . Это дает возможность пользоваться титрами рабочих растворов по определяемому веществу, приведенными в методиках.

Рассмотрим три случая установки титра растворов и вычисления поправки к титру K .

1. Для растворов примерно одинаковых нормальностей поправку к титру K рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{V}{V_x}, \quad (1)$$

где V — объем исходного (точного) титрованного раствора;
 V_x — объем раствора приближенной нормальности.

Если при установке титра пользуются не исходным раствором, а раствором с установленным титром, имеющим поправку к титру K_1 , то поправочный коэффициент K для приближенного раствора рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{V \cdot K_1}{V_x}. \quad (2)$$

Приведем несколько примеров вычисления поправки к титру K .

Пример 1. Рассчитать поправку к титру K для приближенного 0,1 н раствора NaOH , если расходуется 26,2 мл этого раствора на титрование 25,0 мл серной кислоты, приготовленной из фиксаля ($K = 1$).

Поправку K рассчитываем по формуле (1):

$$K_{0,1 \text{ н } \text{NaOH}} = \frac{25}{26,2} = 0,955.$$

Необходимо заметить, что в поправке к титру K следует составлять три десятичных знака (после запятой).

Техника установления титра. В три конические колбы емкостью 250 мл пипеткой отмериваем по 25 мл 0,1 н H_2SO_4 , приготовленной из фиксаля, и прибавляем по 2—3 капли индикатора метилрота, нейтральрота или фенолфталеина. В бюретку наливаем исследуемый приближенный 0,1 н раствор NaOH . Титруем кислоту до появления желтого окрашивания. Из полученных трех объемов раствора NaOH вычисляем среднее значение объема, которое и подставляем в формулу при вычислении K .

Пример 2. Рассчитать поправку к титру для приближенной 0,1 н HCl , если на титрование 25 мл расходуется 24,5 мл исходного 0,1 н раствора соды ($K = 1$).

$$\text{Поправка к титру } K_{0,1 \text{ н } \text{HCl}} = \frac{24,5}{25} = 0,980.$$

Пример 3. На титрование 25,0 мл приближенной 0,05 н HCl израсходовано 26,8 мл 0,05 н раствора NaOH , имеющего поправку к титру $K = 0,954$. Как рассчитать поправку к титру для 0,05 н HCl .

Поправку к титру для 0,05 н HCl рассчитываем по формуле (2):

$$K_{0,05 \text{ н } \text{HCl}} = \frac{26,8 \cdot 0,954}{25} = \frac{25,6}{25} = 1,024.$$

Пример 4. На титрование 20,0 мл 0,1 н точного раствора щавелевой кислоты, приготовленной из фиксанала ($K = 1$), израсходовано 20,8 приближенного 0,1 н раствора KMnO_4 . Рассчитать поправку к титру K для 0,1 н раствора перманганата калия.

Поправку к титру рассчитываем по формуле (1):

$$K_{0,1 \text{ н } \text{MnO}_4} = \frac{20}{20,8} = 0,962.$$

Техника установления титра. В три конические колбы емкостью 250 мл пипеткой берут по 20 мл 0,1 н раствора щавелевой кислоты, прибавляют мерным цилиндром по 10 мл 10%-ной H_2SO_4 и нагревают до 70—80°. Горячие растворы титруют из бюретки приближенным 0,1 н раствором перманганата калия. Из полученных данных берут среднее значение.

II. В случае растворов различных нормальностей сначала рассчитывают точную нормальность приготовленного раствора по формуле:

$$N_x = \frac{V \cdot N}{V_x}, \quad (3)$$

где N_x — нормальность приготовленного раствора;

V_x — его объем;

N — нормальность точного (исходного) раствора;

V — его объем.

Если для установки титра применяют раствор с установленным титром, т. е. если он имеет поправку к титру K , то формула (3) приобретает следующий вид:

$$N_x = \frac{V \cdot N \cdot K}{V_x} \quad (4)$$

Поправку к титру K вычисляют затем по формуле:

$$K = \frac{N_x}{N}, \quad (5)$$

где N_x — вычисленная нормальность приближенного раствора;

N — ближайшая к ней по величине общепринятая (стандартная) нормальность.

Рассмотрим несколько примеров по расчетам поправки к титру в случае растворов различных нормальностей.

Пример 1. Рассчитать поправку к титру K для 0,05 н раствора NaOH , если на титрование 10,0 мл точно 0,1 н HCl , приготовленной из фиксанала, израсходовано 22,0 мл раствора NaOH .

Сначала рассчитываем точную нормальность раствора NaOH по формуле (3):

$$N_x = \frac{10 \cdot 0,1}{22} = \frac{1}{22} = 0,0454 \text{ н } \text{NaOH}.$$

Необходимо отметить, что в числе, выражающем нормальность, необходимо оставлять четыре десятичных знака (после запятой), т. е. на один знак больше, чем в поправке к титру K . Поправку к титру K рассчитываем по формуле (5):

$$K_{0,5 \text{ н } \text{NaOH}} = \frac{0,0454}{0,05} = 0,908.$$

В качестве значения N , т. е. стандартной нормальности, мы взяли 0,05, так как вычисленная нами нормальность ближе всего подходит к этой величине. Итак, мы считаем раствор NaOH 0,05 н, но имеющим поправку K , равную 0,908.

Пример 2. На титрование 10,0 мл 0,1 н раствора HCl , имеющей поправку $K = 1,025$, израсходовано 50,0 мл приближенного 0,02 н раствора NaOH . Рассчитать точную нормальность и поправку к титру K для 0,02 н раствора NaOH .

Рассчитываем точную нормальность раствора NaOH по формуле (4):

$$N_x = \frac{V \cdot N \cdot K}{V_x} = \frac{10 \cdot 0,1 \cdot 1,025}{50} = 0,0205 \text{ н.}$$

Рассчитанная нормальность близка к 0,02. Поправку к титру находим по формуле (5):

$$K_{0,2 \text{ н } \text{NaOH}} = \frac{N_x}{N} = \frac{0,0205}{0,02} = 1,025.$$

Установление титра по методу титрования навески реактива. Метод заключается в следующем. На аналитических весах отвешивают определенную навеску реактива, отвечающего требованиям приготовления точных растворов. Величина навески должна быть такова, чтобы при ее растворении в 25—30 мл воды получился раствор, по своей нормальности близкий к нормальности приближенного раствора. Затем раствор титруют приближенным раствором, титр которого необходимо установить, и рассчитывают его точную нормальность и поправку к титру K способом, описанным ниже.

Нетрудно видеть, что метод титрования навески, при котором объем измеряется только один раз (бюреткой), дает более точные результаты, чем изложенные выше методы титрования определенных объемов исходных (точных) растворов, при которых объем измеряют три раза (мерной колбой, пипеткой и бюреткой).

Пример 3. Приготовлен приближенный 0,1 н раствор HCl . Требуется установить поправку к титру K методом титрования навески соды Na_2CO_3 (подготовленной для приготовления исходного раствора).

Поскольку необходимо устанавливать титр приблизительно, 0,1 н HCl , то навеску соды следует брать такой величины, чтобы, растворив ее в 25 мл воды, иметь раствор примерно такой же нормальности.

Молекулярный вес соды Na_2CO_3 равен 106,0; грамм-эквивалент $\frac{106}{2} = 53$ г; 0,1 грамм-эквивалента — 5,3 г.

Навеска на 25 мл 0,1 н раствора соды.

$$\frac{5,3 \cdot 25}{1000} = 0,1325 \text{ г.}$$

Это, конечно, не означает, что нужно брать на аналитических весах точно такую же навеску. Она не должна слишком отклоняться от рассчитанной величины. Важно лишь, чтобы она была точно отвешена.

Разберем расчеты поправки к титру по указанному методу на конкретных примерах.

Пример 1. Допустим, что на титрование навески соды Na_2CO_3 0,1248 г, растворенной в 25 мл дистиллированной воды, было израсходовано 25,5 мл приблизительно 0,1 н HCl . Рассчитать точную нормальность и поправку к титру для HCl .

Если разделим навеску соды (0,1248) на величину грамм-эквивалента соды (53 г), то получим количество грамм-эквивалентов соды, содержащееся в навеске 0,1248 г:

$$\frac{0,1248}{53} = 0,00235 \text{ г-экв. } \text{Na}_2\text{CO}_3.$$

Так как индикатор показал окончание титрования, очевидно, такое же количество грамм-эквивалентов содержалось в 25,5 мл раствора HCl , т. е.

$$\frac{N_x \cdot 25,5}{1000} = 0,00235.$$

Отсюда точная нормальность HCl :

$$N_x = \frac{1000 \cdot 0,00235}{25,5} = \frac{2,35}{25,5} = 0,0923.$$

$$\text{Поправку к титру } K_{0,1 \text{ н } \text{HCl}} = \frac{0,0923}{0,1} = 0,923.$$

Техника установления титра. На аналитических весах отвешиваем навеску соды, не сильно отклоняющуюся от рассчитанной величины. В данном случае навеска составила 0,1248 г. Навеску растворяем в 25—30 мл дистиллированной воды, добавляем 2—3 капли индикатора. В бюретку наливаем приготовленный приблизительно 0,1 н раствор HCl и титруем до появления розовой окраски, если применялись индикаторы метилрот или нейтральный красный.

Пример 2. Приготовлен приблизительно 0,05 н раствор перманганата калия. Установить титр методом титрования навески щавелевой кислоты $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и рассчитать поправку к титру K .

Молекулярный вес $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ равен 126,05 грамм-эквивалент (в окислительно-восстановительной реакции) составляет $\frac{126,05}{2} = 63,04 \text{ г}$; 0,05 грамм-эквивалента — 3,152 г.

Навеска $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ на 25 мл 0,05 н раствора

$$\frac{3,152 \cdot 25}{1000} = 0,0788 \text{ г}.$$

Навеска $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, взятая на аналитических весах, составила 0,0820 г. Навеска была растворена в 25 мл дистиллированной воды, к раствору было добавлено мерным цилиндром 10,0 мл 10%-ной H_2SO_4 . На титрование нагретого до 70—80° раствора было израсходовано 27 мл приблизительно 0,05 н раствора перманганата калия.

Количество грамм-эквивалентов, содержащихся в навеске щавелевой кислоты (0,0820 г):

$$\frac{0,082}{63,04} = 0,00130 \text{ г-экв. } \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}.$$

Столько же грамм-эквивалентов содержится и в 27,5 мл приближенного 0,05 н KMnO_4 :

$$\frac{N_x \cdot 27}{1000} = 0,0013.$$

Откуда точная нормальность раствора KMnO_4 :

$$N_x = \frac{1000 \cdot 0,0013}{27} = \frac{1,3}{27} = 0,048.$$

Поправка к титру $K_{0,05 \text{ н } \text{KMnO}_4} = \frac{0,048}{0,05} = 0,960$.

РАСЧЕТЫ И ПРИГОТОВЛЕНИЕ СТАНДАРТНЫХ РАСТВОРОВ

Для приготовления стандартных растворов следует применять реактивы, квалификации х ч., состав которых точно отвечает их химической формуле, т. е. к реактивам предъявляются такие же требования, как в случае приготовления исходных титрованных растворов.

Пример 1. Приготовить стандартный раствор фосфата из KN_2PO_4 для фотоэлектроколориметрического определения фосфора в кормах. 1 мл раствора должен содержать 0,05 мг фосфора.

Находим молекулярный вес KN_2PO_4 ; он равен 136,1.

Расчеты производим на 1 л стандартного раствора. В 1 мл содержится 0,05 мг Р, а в 1000 мл — 50 мг, или 0,05 г, фосфора.

В грамм-молекуле KN_2PO_4 (в 136,1) содержится один атом фосфора Р или 31,0 г; нам необходимо взять такое количество KN_2PO_4 , чтобы в нем содержалось 0,05 г фосфора. Составляем пропорцию:

$$136,1 - 31,0$$

$$x - 0,05$$

$$x = \frac{136,1 \cdot 0,05}{31} = 0,2196 \text{ г } \text{KN}_2\text{PO}_4$$

На аналитических весах отвешиваем 0,2196 г химически чистого однозамещенного фосфата калия KN_2PO_4 (на часовом стекле), тщательно, через воронку, переносим в мерную колбу на 1 л и растворяем в дистиллированной воде. Раствор в колбе доливаем до метки водой и тщательно перемешиваем.

Пример 2. Приготовить стандартный раствор для фотоэлектроколориметрического определения азота в кормах из хлористого аммония. 1 мл раствора должен содержать 0,005 мг азота. Если в 1 мл содержится 0,005 мг, то в 1000 мл будет содержаться 5 мг, или 0,005 г азота.

Находим молекулярный вес хлористого аммония; он равен 53,5. Составляем пропорцию:

$$53,5 - 14$$

$$x - 0,005$$

$$x = \frac{53,5 \cdot 0,005}{14} = 0,0191 \text{ г } \text{NH}_4\text{Cl}.$$

Такую малую навеску не следует отвешивать на аналитических весах в связи с тем, что относительная погрешность взвешивания достаточно велика (около 1%). Умножаем рассчитанную величину на 40, в результате получаем 0,7640 г NH_4Cl .

Отвешиваем на аналитических весах 0,7640 г химически чистого NH_4Cl , растворяем и доводим до метки дистиллированной водой в мерной колбе на 1 л и тщательно перемешиваем полученный раствор. Пипеткой берем 25 мл раствора в мерную колбу на 1 л и доводим до черты дистиллированной водой. Мы разбавили исходный раствор в 40 раз и теперь 1 мл этого раствора содержит 0,005 мг азота.

НАДПИСИ НА СКЛЯНКАХ

После того как приготовлен раствор, на склянку необходимо наклеить этикетку установленной формы, на которой должно быть указано название реактива и его химическая формула, концентрация и дата приготовления. Если это титрованный раствор, на этикетке должна быть указана не только дата приготовления раствора, но и дата установления титра. Этикетки на одинаковых склянках должны иметь одни и те же размеры.

Приводим образцы этикеток для различных растворов.

I. Приближенные растворы

1. Процентные растворы:

NaCl
5,0%
12/II-65 г.

HCl
10,0%
10/II-65 г.

2. Молярные растворы:

$K_2Cr_2O_4$
0,5 м
11/II-65 г.

Цитрат
аммония
1-замещенный
0,25 м
9/II-65 г.

II. Точные растворы

1. Нормальные растворы с приготовленным титром, так называемые исходные титрованные растворы, приготовленные из фиксаналов и исходных реактивов:

H_2SO_4
0,1 н
 $K=1$
5/II-65

$H_2C_2O_4$
0,1 н
 $K=1$
12/II-65 г.

2. Нормальные растворы с установленным титром:

NaOH
0,1 н
 $K=0,982$
10/II-65 г.

$KMnO_4$
0,05 н
 $K=1,024$
11/II-65 г.

3. Стандартные и образцовые растворы:

Стандартный
раствор KH_2PO_4
0,05 мг P/мл
8/II-65 г.

Стандартный
раствор NH_4Cl
0,005 мг N/мл
9/II-65 г.

Предохранение растворов от порчи. Светочувствительные растворы, такие, как марганцовокислый калий, гидрохинон и другие следует хранить в бутылках, склянках из темного стекла.

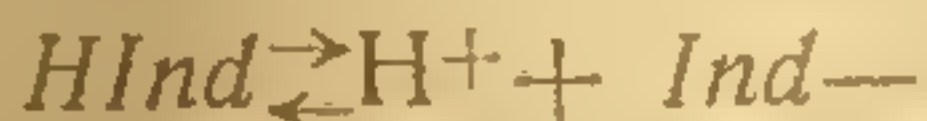
Бутыли и склянки с раствором щелочи, гипосульфита и некоторые другие предохраняют от воздействия углекислоты воздуха посредством трубки с натронной известью.

КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНЫЕ ИНДИКАТОРЫ

В большинстве случаев происходящие при титровании реакции не сопровождаются изменением окраски раствора при достижении точки эквивалентности. Поэтому, чтобы фиксировать окончание титрования, к раствору прибавляют индикаторы (указатели).

Применяемые при кислотно-основных титрованиях индикаторы представляют собой слабые органические кислоты или слабые основания, у которых недиссоциированные молекулы имеют другую окраску, чем образуемые ими ионы. Пример, лакмус содержит азолитминовую кислоту, недиссоциированные молекулы которой красного цвета, а анионы — синего.

Если индикаторную кислоту обозначить через $HInd$, а ее анионы — через Ind^- , — тогда диссоциацию индикатора можно представить таким уравнением:



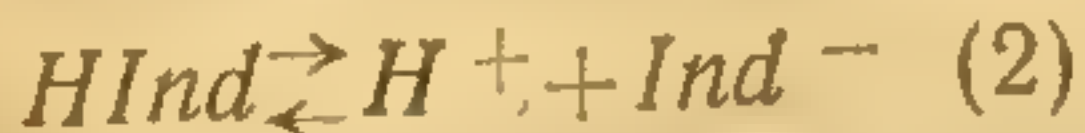
Для лакмуса это будет:



красный синий

При растворении лакмуса в воде находятся недиссоциированные молекулы, H^+ и анионы Ind^- : окраска раствора промежуточная, т. е. фиолетовая. Если к этому раствору прибавить каплю кислоты, то равновесие (1) сместится влево, так как введенные в раствор ионы водорода свяжут большую часть анионов Ind^- в недиссоциированные молекулы $HInd$ и раствор станет красным. Если же к раствору прибавить каплю щелочи, то ее ионы OH^- свяжут ионы H^+ индикатора с образованием воды: равновесие (1) сдвинется вправо, раствор посинеет.

У фенолфталеина недиссоциированные молекулы бесцветны, анионы же малинового цвета:



бесцветный малиновый

Следовательно, при воздействии щелочей раствор фенолфталеина становится малиновым (или розовым), а от кислот — бесцветным.

Титруя кислотой или щелочью, мы изменяем концентрацию водородных и гидроксильных ионов, т. е. изменяем pH раствора. Окраска индикатора изменяется в определенном интервале pH — области перехода. Область перехода окраски у различных индикаторов находится в различных значениях pH . Титрование с индикатором прекращают в тот момент, когда глаз отчетливо замечает изменение его окраски. Та величина pH ,

при которой индикатор изменяет свою окраску, называется показателем титрования.

Из таблицы видно, что с различными индикаторами заканчивают титрование при значениях pH , которые обычно не совпадают с нейтральной точкой, т. е. с pH , равным 7:

Название индикатора	Окраска		Область перехода окраски (интервалы значений pH)	Показатель титрования
	в кислом растворе	в щелочном растворе		
Метиловый оранжевый (метилоранж)	Розовая	Желтая	3,1—4,4	4,0
Метиловый красный (метилрот)	Красная	Желтая	4,4—6,2	5,5
Нейтральный красный (нейтральный)	Красная	Желтая	6,8—8,0	7,4
Лакмус	Красная	Синяя	5,0—8,0	6,5
Фенолфталеин	Бесцветная	Малиновая	8,0—10,0	9,0

Но это не означает, что при этом допускается большая ошибка в определении точки эквивалентности.

Эквивалентная точка титрования далеко не всегда совпадает с нейтральной реакцией раствора. Здесь часто приходится считаться с гидролизом солей, полученных в результате титрования. Так, например, при титровании слабой кислоты сильной щелочью образуются соли, подвергающиеся гидролизу, сдвигающему реакцию раствора в щелочную сторону. При титровании же сильной кислоты слабой щелочью вследствие гидролиза раствор в точке эквивалентности приобретает кислую реакцию. В этих случаях эквивалентная точка титрования не может совпадать с нейтральной точкой. Она будет находиться при pH большем или меньшем 7 в зависимости от механизма гидролиза.

Таким образом, при титровании кислых и щелочных растворов значение pH в точке эквивалентности будет зависеть от природы титруемых кислот и оснований. В одних случаях эта точка будет находиться в нейтральной среде, т. е. при $pH = 7$. В других — в кислой среде (при pH меньше 7) и, наконец, в третьих — в щелочной среде (при pH больше 7). Поэтому в каждом случае кислотно-основного титрования необходимо при изменении окраски которого происходит при соответствующем значении pH , которым характеризуется точка эквивалентности для данного титрования. Следовательно, все дело сводится к правильному выбору индикатора.

Изучение кривых титрования, изображающих ход изменения pH титруемого раствора в зависимости от количества титрующего реагента, показывает, что вблизи точки эквивалентности происходит резкий скачок величины pH от одной лишней капли титрующего раствора. Величина этого скачка зависит от кон-

концентрации кислот и щелочей и их химической природы. Рассмотрим 4 типичных случая кислотно-основных титрований:

1. Сильная кислота титруется сильной щелочью. Например, 0,1 н HCl титруется 0,1 н NaOH. Вблизи точки эквивалентности от одной лишней капли щелочи pH изменяется от 4 до 10, т. е. скачок pH составляет 6 единиц. Точка эквивалентности совпадает с нейтральной, т. е. с $\text{pH} = 7$. Из таблицы следует, что для такого титрования можно применять индикаторы метилоранж, метилрот, нейтральрот, фенолфталеин, так как их показатели титрования укладываются в скачок pH, т. е. в пределы значений pH от 4 до 10.

2. Сильная кислота титруется сильной щелочью, но концентрации их порядка 0,01 н. Например, при титровании 0,01 н HCl 0,01 н раствором NaOH скачок составляет только 4 единицы pH, интервал от 5 до 9. Следовательно, можно применять только индикаторы метилрот, нейтральрот и фенолфталеин. Метилоранж нельзя использовать, так как его показатель титрования лежит вне пределов скачка значений pH. Его применение приводит к большой ошибке: раствор кислоты окажется недотитрованным.

3. Слабая кислота титруется сильной щелочью. Например, при титровании 0,1 н уксусной кислоты 0,1 н раствором NaOH скачок составляет 2,25 единицы, интервал от 7,75 до 10, т. е. расположен в щелочной области значений pH. Точка эквивалентности находится при $\text{pH} = 8,87$. Это связано с тем, что образующаяся соль слабой кислоты (уксусной) и сильного основания (едкого натра) вследствие гидролиза дает щелочную реакцию. В этом случае необходимо применять такой индикатор, показатель титрования которого находится в щелочной области. Такие индикаторы получили название щелочных индикаторов. Из всех индикаторов, приведенных в таблице, этим требованиям удовлетворяет только фенолфталеин.

4. Сильная кислота титруется слабой щелочью. Примером может служить титрование 0,1 н соляной кислоты 0,1 н NH_4OH . Скачок составляет 2,24, а точка эквивалентности находится в кислой области при $\text{pH} = 5,12$. В этом случае из приведенных в таблице индикаторов можно использовать метилоранж и метилрот. Нейтральрот и фенолфталеин не годятся для такого типа титрования, так как в этом случае растворы оказались бы перетитрованными.

При титровании слабой кислоты слабой щелочью скачка значений pH не наблюдается, в связи с чем нельзя обнаружить резкого изменения окраски индикатора. В таких случаях титрование вообще оказывается невозможным и не применяется на практике.

На точность установления момента эквивалентности влияет также количество индикатора. Его следует брать 2 капли на 25 мл титруемого раствора.

Точность фиксирования точки эквивалентности зависит не только от количества и химической природы индикатора, но также от порядка титрования. Далеко не безразлично, приливать ли щелочь к кислоте или наоборот. Например, если мы титруем щелочью кислоту и в качестве индикатора взяли метилоранж или метилрот, то окончание титрования определяется тем, что розовая окраска раствора от одной лишней капли щелочи перейдет в желтую. Переход от розового к желтому легче улавливается, чем переход от желтого к розовому, легче улавливается и переход от бесцветной к слабо-розовой окраске. Таким образом, при кислотно-основном титровании в бюретке у нас должна быть щелочь, а в стакане или колбе — кислота.

Чтобы более точно устанавливать окончание титрования, часто прибегают к помощи контрольного раствора или «свидетеля», который готовят следующим образом. Берут стакан или колбу такой же емкости и из такого же стекла, в каком производится титрование, и наливают приблизительно такой объем дистиллированной воды, какой получится в колбе в результате титрования. Прибавив столько капель индикатора, сколько его будут употреблять при титровании, из бюретки добавляют 1—2 капли щелочи, чтобы появилось слабое, но заметное пожелтение раствора. До такого же оттенка титруют исследуемый раствор.

Приготовление растворов некоторых наиболее распространенных индикаторов:

1. *Метиловый оранжевый* (метилоранж) — натриевая соль *n*-диметиламиноазобензол-сульфокислоты. По внешнему виду представляет собой желтые листочки или порошок. В качестве индикатора применяется водный раствор метилоранжа, интервал перехода окраски при $pH = 3,1—4,4$ от красного к желтому.

Приготовление: 0,1 г растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

2. *Метиловый красный* (метилрот) — *n*-диметиламиноазобензол-о-карбоновая кислота. Блестящие темно-фиолетовые кристаллы или красно-бурый порошок. Нерастворим в воде. Применяется в виде 0,1%-ного раствора в 60%-ном этиловом спирте. Для этого 0,1 г индикатора помещают в мерную колбу на 100 мл и растворяют в 62 мл 96%-ного этилового спирта и доливают затем дистиллированной водой до черты. Интервал перехода при $pH = 4,2—6,3$ от красного к желтому.

3. *Лакмус* относится к числу растительных индикаторов. Интервал перехода окраски из красной в синюю при значениях $pH = 5—8$. Раствор лакмуса готовится кипячением его с водой после предварительного экстрагирования спиртом. Этим раствором пропитывают полоски фильтровальной бумаги и используют их в качестве индикаторных. Применяется только для ориентировочного определения pH .

4. *Нейтральный красный* (нейтральрот) — хлористо-водо-

родная соль 2-метил-3-амино-6-диметиламинофеназина. Темно-зеленый кристаллический порошок. Растворим в воде и этиловом спирте. Интервал перехода окраски от красной к желтой при $pH = 6,8-8,0$. Применяется в виде 0,1%-ного спирто-водного раствора: 0,1 г нейтрального красного растворяют в 62 мл 96%-ного этилового спирта и доводят объем до 100 мл дистиллированной водой.

5. *Фенолфталеин* — продукт конденсации фталевого ангидрида с фенолом. Белый или слегка желтоватый мелкокристаллический порошок, очень мало растворимый в воде и легко растворимый в этиловом спирте. Область перехода окраски от бесцветной к слабо-розовой находится при $pH = 8,2-10$. В качестве индикатора применяют 0,1%-ный спиртовой раствор: 0,1 г фенолфталеина растворяют в 62 мл 96%-ного этилового спирта и доводят раствор до черты дистиллированной водой в мерной колбе на 100 мл.

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

КЛАССИЧЕСКИЕ методы химического анализа позволяют определять качественный и количественный состав самых разнообразных веществ. Однако выполнение анализов этими методами требует во многих случаях большой затраты времени и труда на проведение многочисленных аналитических операций для отделения мешающих компонентов, осаждения и промывания осадков и пр. Это особенно относится к анализу сложных объектов, с которыми приходится иметь дело при проведении биохимических исследований.

В тех случаях, когда аналитику приходится определять микроколичества тех или иных элементов, обычные методы анализа не обеспечивают необходимой для этой цели чувствительности. Интересующая исследователя составная часть может содержаться в анализируемом веществе в столь малых количествах, что их выделение химическими методами не представляется возможным. Это особенно относится к определению микроэлементов в биологических материалах.

Существующие классические весовые, объемные и другие методы из-за малой производительности не в состоянии обеспечить выполнение все возрастающего объема аналитических работ. В аналитических исследованиях большое значение приобретает фактор скорости. Кроме того, современное развитие биологической науки идет по линии все более глубокого изучения сущности биохимических процессов, протекающих в живых организмах.

Химические методы анализа основаны на применении химических реакций, протекающих с образованием осадков (в методах осаждения), выделением газа (в газовом анализе), реакций окисления-восстановления (в методах оксидиметрии) и т. п.

Однако состав веществ можно во многих случаях определить и другими методами, не связанными с протеканием хими-

ческих реакций. Для определения количества какой-либо составной части исследуемого вещества иногда достаточно измерить показатели каких-либо физических свойств, например коэффициент преломления света, электропроводность, удельный вес и т. п. Так, определив показатель преломления сыворотки крови, можно найти в ней содержание белков. Методы анализа, основанные на измерении показателей физических свойств исследуемых веществ, называются физическими.

Для количественного анализа можно использовать также химические реакции, протекание которых сопровождается изменением физических свойств анализируемого раствора, например окраски и ее интенсивности, силы тока в зависимости от внешнего напряжения во время электролиза, величины электропроводности и т. д. Так, измеряя интенсивность синего окрашивания при взаимодействии молибдата аммония с фосфат-ионами в присутствии восстановителей, можно определить содержание фосфатов в растворе. Методы анализа, основанные на регистрации изменений физических свойств анализируемой системы, происходящих в результате определенных химических реакций, называются физико-химическими.

Отличительной особенностью физико-химических методов является большая скорость выполнения анализов в сочетании с высокой чувствительностью и разрешающей способностью. С их помощью можно определять ничтожные количества того или иного элемента порядка тысячных и даже стотысячных долей процента. Причем во многих случаях это можно выполнить в сложной многокомпонентной системе, не прибегая к химическим методам выделения определяемого вещества.

В аналитической химии за последнее десятилетие оформляется направление, которое называют инструментальными методами анализа. В промышленности они играют теперь очень важную роль, обеспечивая большую скорость выполнения анализов и непрерывный контроль производства. С каждым годом они приобретают все большее распространение в биологических исследованиях и могут с успехом применяться в ветеринарии.

Инструментальные методы анализа можно подразделить на оптические, электрометрические, хроматографические и радиометрические.

В настоящем руководстве приводятся только некоторые физико-химические методы, которые находят все большее применение в работе биохимических лабораторий.

К фотометрическим относятся методы, основанные на измерении количества света, прошедшего через исследуемый раствор. Фотометрия включает колориметрический, фотоэлектроколориметрический методы анализа, а также пламенную фотометрию и спектрофотометрию.

Теоретической основой фотометрических методов анализа является известное уравнение Бугера-Ламберта-Бера:

$$J_t = J_0 \cdot 10^{-\varepsilon c l}, \quad (1)$$

где J_t — интенсивность света, прошедшего через окрашенный раствор;

J_0 — начальная интенсивность света;

ε — коэффициент погашения (зависит от химической природы вещества, от длины волны света и температуры, но не зависит от концентрации определяемого вещества);

c — концентрация раствора;

l — толщина его слоя.

Из уравнения (1) могут быть получены две величины: светопропускание T и оптическая плотность D , которые необходимы для расчетов концентрации определяемых веществ при проведении фотометрических анализов.

Зависимость между светопропусканием раствора T и его концентрацией C графически выражается в виде кривой гиперболы. График зависимости между оптической плотностью раствора D и его концентрацией C представляет прямую линию, проходящую через начало координат. Оптическая плотность D прямо пропорциональна концентрации раствора. При условии подчинения раствора закону Бера должна быть линейная зависимость между D и C . На шкалах измерительных барабанов фотометров и фотоэлектроколориметров величины T наносятся черной, а величины D — красной краской.

Необходимо отметить, что далеко не все растворы подчиняются закону Бера. Кроме того, наблюдается такое явление: в одном диапазоне концентраций растворы подчиняются этому закону, а в другом не подчиняются. Поэтому в каждом отдельном случае перед колориметрическим определением необходимо выяснить, в области каких концентраций определяемого вещества приложим закон Бера. Расчеты концентраций при проведении колориметрического анализа на колориметрах типа Дюбоска проводятся на основе прямо пропорциональной зависимости и, если растворы не подчиняются указанному выше закону, это может повлечь за собой грубые ошибки в определении концентраций.

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА

Колориметрическим называется метод анализа, основанный на сравнении интенсивностей окрасок стандартных и исследуемых растворов. Он подразделяется на: 1) визуальный, когда окраски сравниваются без применения аппаратуры и 2) инстру-

ментальный, когда сравнение интенсивности окрасок растворов проводится с помощью приборов-колориметров.

Метод стандартных серий или шкал. При колориметрировании по этому способу исследуемый раствор в пробирке сравнивается с серией стандартных растворов, находящихся в пробирках того же, строго одинакового, диаметра. Неизвестная концентрация равна концентрации стандартного раствора, интенсивность окраски которого совпадает с интенсивностью окраски исследуемого раствора.

Стандартные шкалы могут быть не только в виде окрашенных растворов, но и в виде специально окрашенных стекол и бумажек. Следует отметить, что метод стандартных шкал получил довольно большое распространение в биохимических исследованиях. Это объясняется тем, что не требуется подчинения исследуемых растворов закону Бера, определения проводятся быстро и не требуют применения аппаратуры. Недостатком метода является необходимость частого приготовления серии стандартных растворов (шкал) в связи с их выцветанием при хранении. Что касается имитирующих растворов, стеклянных и бумажных шкал, то их изготовление является делом трудным. Много времени приходится затрачивать на подбор правильных оттенков окраски.

Метод уравнивания окрасок. Колориметрирование растворов по этому методу возможно только при условии их подчинения закону Бугера-Ламберта-Бера, т. е. метод применим в том случае, когда соблюдается прямолинейная зависимость между оптической плотностью D и концентрацией раствора C . Уравнивание окрасок растворов производится с помощью специальных приборов-колориметров.

Расчеты концентраций при проведении колориметрических определений основаны на том, что толщины (или высоты) слоев исследуемого и стандартного растворов (h_{cm} и h_x) при одинаковой интенсивности окраски обратно пропорциональны их концентрациям C_x и C_{cm} :

$$\frac{C_x}{C_{cm}} = \frac{h_{cm}}{h_x}.$$

Отсюда концентрация исследуемого раствора

$$C_x = \frac{C_{cm} \cdot h_{cm}}{h_x} \quad (2)$$

C_x в уравнении (2) выражает концентрацию исследуемого вещества в объеме, взятом для колориметрирования. Для расчета содержания вещества в объекте анализа необходимо учесть навеску, общий объем раствора и объем, взятый для анализа.

При отсутствии светофильтров метод уравнивания окрасок мало отличается по своей точности от метода шкал.

Чтобы увеличить чувствительность и избирательность коло-

риметрических методов, необходимо применять светофильтры. Светофильтрами называют окрашенные среды (твердые, иногда жидкие), пропускающие лучи только некоторой определенной области спектра. Для колориметрического определения данного вещества следует выбрать такой светофильтр, который пропускает только тот световой луч, который наиболее сильно поглощается раствором, а это дает возможность определять очень малые концентрации, которые прибор без светофильтров не «чувствует».

Аппаратура для проведения колориметрического анализа. При колориметрировании по методу стандартных серий (шкал) используют пробирки, градуированные или имеющие одну отметку с указанием объема. Важными условиями при выборе пробирок являются: 1) бесцветность стекла; 2) одинаковая толщина стенок и 3) одинаковый диаметр.

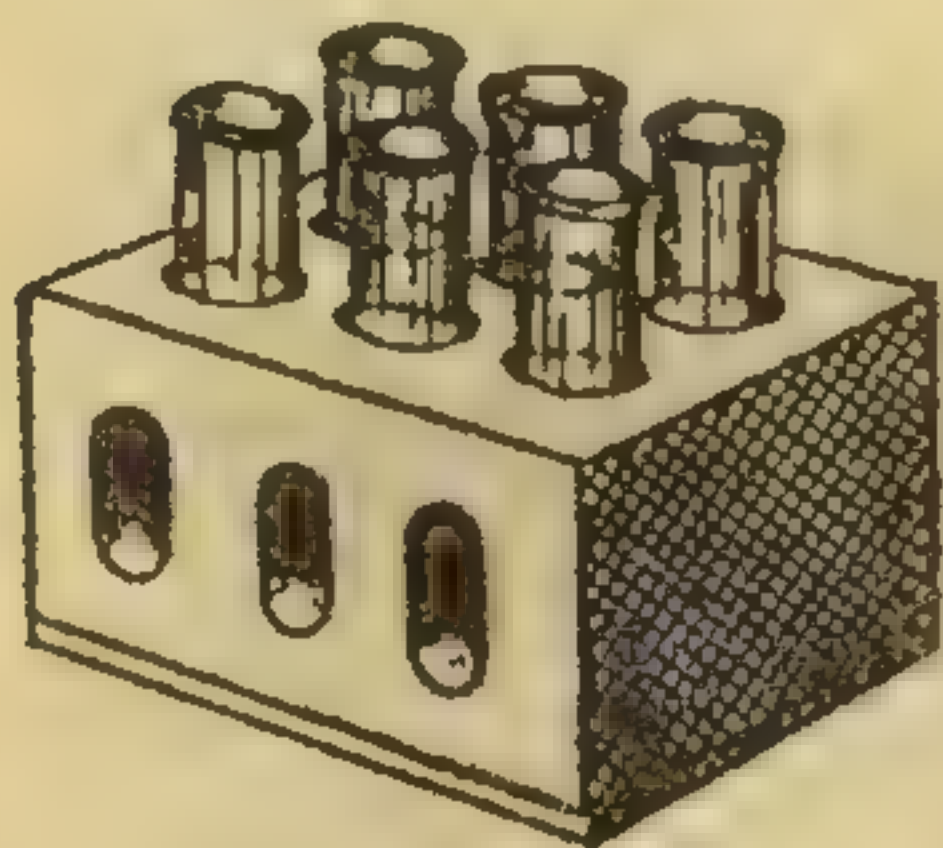


Рис. 27. Компаратор

Для колориметрического определения рН применяют компаратор (рис. 27). В центральное гнездо первого ряда отверстий ставят пробирку с исследуемым раствором, а в крайние гнезда — пробирки со стандартными растворами.

Меняя пробирки со стандартами, добиваются, чтобы окраска исследуемого раствора была средней между стандартами. Если исследуемый раствор имеет собственную окраску, то в крайние гнезда второго ряда помещают исследуемый раствор без индикатора, а в среднее гнездо — пробирку с водой. В этом случае собственная окраска раствора элиминируется (исключается).

Колориметрирование по методу уравнивания окрасок проводится в специальных приборах — колориметрах. Внешний вид наиболее распространенного и простого колориметра типа Дюриметра (без светофильтров) показан на рис. 28. На станине колориметра укреплены стеклянные призмы (погружатели), по высоте двигаются при помощи винтов-кремальер гнезда для кювет, причем высоты гнезд отсчитываются по шкале. Они выражаются в мм. Целые деления отсчитываются по основной шкале, десятые доли — по нониусу.

Луч света от зеркала Z проходит через слой исследуемого раствора слева, через призму-погружатель E , призму B , линзы L и попадает в окуляр, освещая правую половину оптического поля. Другой луч проходит через слой стандартного раствора справа, через погружатель E_1 , призму B_1 , линзы L и попадает в окуляр освещая левую половину оптического поля. Меняя винтами высоты слоев растворов, добиваются одинаковой интенсив-

ности окраски оптических полей. В этот момент мы имеем соотношение:

$$\frac{C_x}{C_{см}} = \frac{h_{см}}{h_x}.$$

А. Установка и проверка работы прибора

1. Прибор ставят на стол возле окна так, чтобы он был хорошо освещен рассеянным светом, но чтобы на него не падали солнечные лучи. При работе вечером пользуются электрической лампочкой, установленной перед прибором.

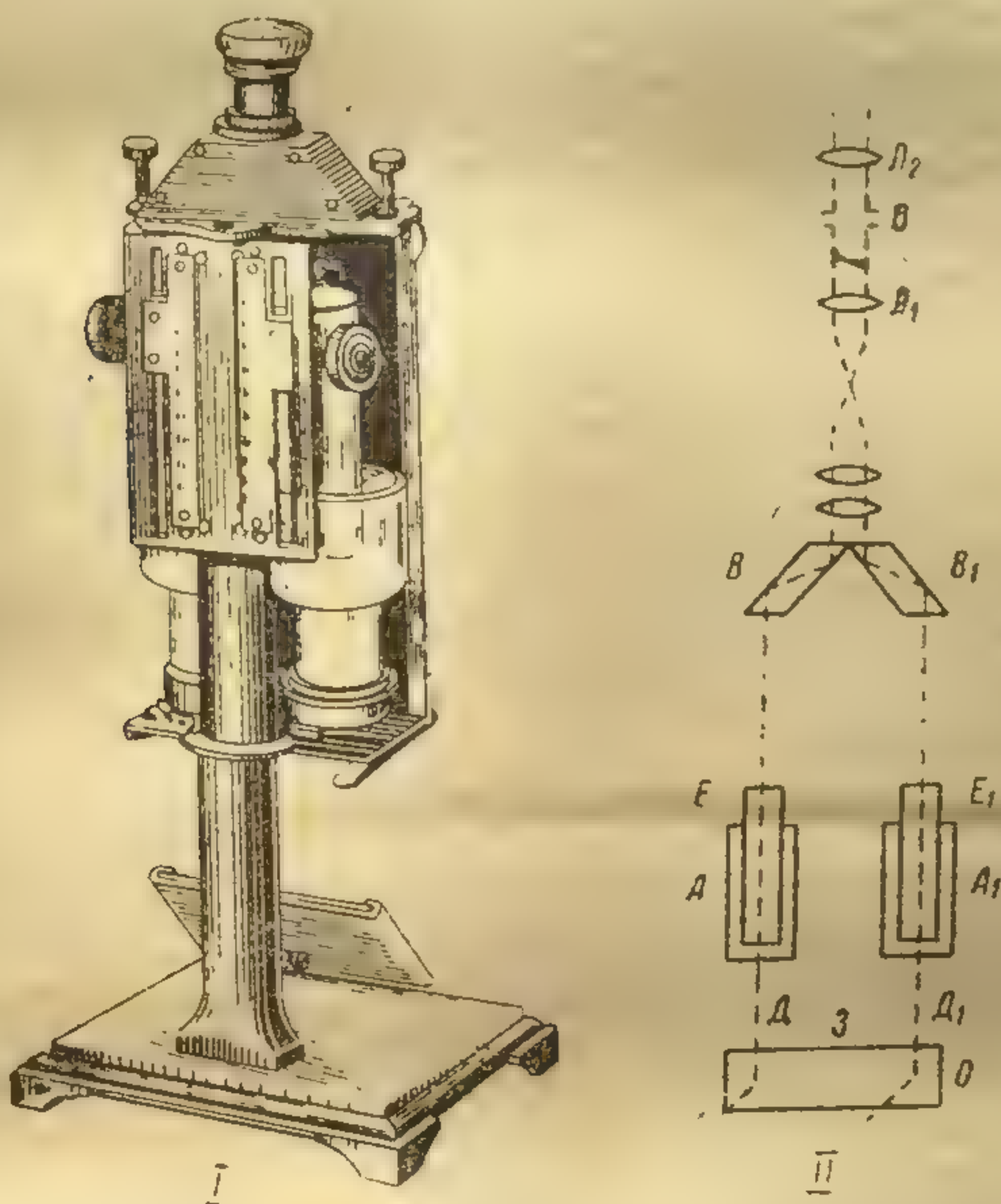


Рис. 28. Колориметр Дюбокса: I — общий вид; II — схема прохождения лучей света; A и A₁ — стаканчики для растворов; E и E₁ — призмы, погружаемые в раствор; B и B₁ — призмы; З — зеркало

2. Просматривая в окуляр поле зрения, устанавливают колориметр так, чтобы на зеркало или белую матовую отражательную пластинку падало максимум света.

3. В левую и правую кюветы наливают дистиллированную воду, ставят их в гнезда, погружают в воду призмы вращением кремальеры и устанавливают для обеих кювет одинаковую высоту слоев.

4. Установив на фокус окуляр, просматривают поле зрения. Зеркало прибора поворачивают так, чтобы получить максимальную и притом совершенно одинаковую интенсивность освещения обеих половинок поля зрения.

5. Выливают воду из кювет и наливают в них один и тот же стандартный раствор, приготовленный для проведения анализа. Вращением кремальеры левую кювету устанавливают на определенную высоту, например на 20 делений. Правую кювету передвигают до тех пор, пока не сравняются окраски обеих половинок оптического поля. Производят 3—4 установки одноцветного поля зрения и из полученных отсчетов берут среднее значение. Расхождение между высотой левой и правой кювет не должно превышать 0,5 деления. Если расхождения составят большую величину, то в отсчет высоты столба стандартного раствора вносят необходимую поправку.

Пример. Левая кювета установлена на 20 делений шкалы. Отсчет высоты для правой кюветы (с тем же стандартным раствором) составил 21 деление. Поправка к высоте 20 левого стандартного раствора +1. При расчетах следует пользоваться исправленной высотой слоя стандартного раствора, т. е. брать 21 деление, хотя кювета находилась на высоте 20 делений.

6. После указанной установки и проверки работы прибора можно приступать к выполнению анализов.

Б. Техника выполнения анализов

1. Приготавливают несколько стандартных растворов, охватывающих диапазон концентраций определяемого вещества в исследуемых растворах, и нумеруют их по порядку.

2. Сравнивают на глаз окраску исследуемого раствора (после добавления окрашивающего реагента) с окраской серии колб со стандартными растворами и отмечают номер стандартного раствора, окраска которого наиболее близка к окраске исследуемого раствора.

3. Указанный стандартный раствор наливают в левую кювету, погружают призму и устанавливают ее на определенную высоту (в целых делениях шкалы).

4. В правую кювету наливают исследуемый раствор, погружают в него призму и изменяют его высоту вращением кремальеры до получения одинаковой интенсивности обеих половинок поля зрения. Затем вращением кремальеры нарушают положение, снова добиваются получения одноцветного поля зрения и отсчитывают высоту слоя раствора. Таких отсчетов делают не менее трех и берут среднее значение. Целые деления отсчитывают по основной шкале, десятые доли — по нониусу.

5. Содержание определяемого вещества в 2 или мг в объеме раствора, подготовленного к колориметрированию, рассчитыва-

ют по формуле (2), а затем, учитывая разбавление, объемы и навеску, рассчитывают содержание определяемого вещества в объекте анализа. Необходимые расчетные формулы будут приводиться при описании методов определения тех или иных компонентов колориметрическим методом.

При работе с колориметрами следует строго придерживаться следующих основных правил:

1. Погружатели и кюветы должны содержаться в абсолютной чистоте. Время от времени их надо вытирать чистой, сухой, мягкой тряпкой (или марлей).

2. Перед каждым определением кювету следует два раза сполоснуть исследуемым раствором.

3. Кюветы необходимо наполнять с таким расчетом, чтобы при полном погружении в них призм раствор не выливался, так как это приводит к порче деталей прибора.

4. Осветительные зеркала или белые матовые пластинки-отражатели перед работой и после протирают мягкой чистой тряпкой.

5. Когда колориметр не работает, он должен быть прикрыт от пыли.

6. После работы призмы-погружатели и кюветы должны быть вымыты и вытерты насухо.

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ФОТОМЕТР ФМ-56

Определения концентраций окрашенных растворов могут проводиться с помощью упрощенного визуального спектрофотометра ФМ-56, в котором монохроматизация света достигается с помощью светофильтров с достаточно узкой полосой пропускания спектра лучей. Спектрофотометры подобного типа получили название универсальных фотометров.

Универсальный фотометр ФМ-56 позволяет измерять светопропускание T и оптическую плотность D растворов и твердых прозрачных (нерассеивающих) веществ. Наличие в приборе ряда узкополосных монохроматических светофильтров позволяет также снимать спектральную характеристику раствора данного вещества.

Принцип действия прибора основан на уравнивании интенсивностей двух световых потоков путем изменения диаметра отверстия одной из диафрагм, через которые световые лучи попадают в глаз наблюдателя.

Два световых луча I и II (рис. 29) попадают в прибор через диафрагмы 4 и 2, связанные с измерительными барабанами 3 и 4, имеющими красные шкалы оптической плотности D и черные шкалы светопропускания T .

Оптической системой прибора эти два луча сводятся вместе и направляются в глаз наблюдателя, который видит поле зрения в форме круга, разделенного линией на две половины. Яркость

левой части поля определяется световым потоком, проходящим через правую диафрагму, а яркость правой части поля — световым потоком, проходящим через левую диафрагму.

При установке обоих измерительных барабанов на красный нуль оптической плотности, диафрагмы 1 и 2 окажутся полно-

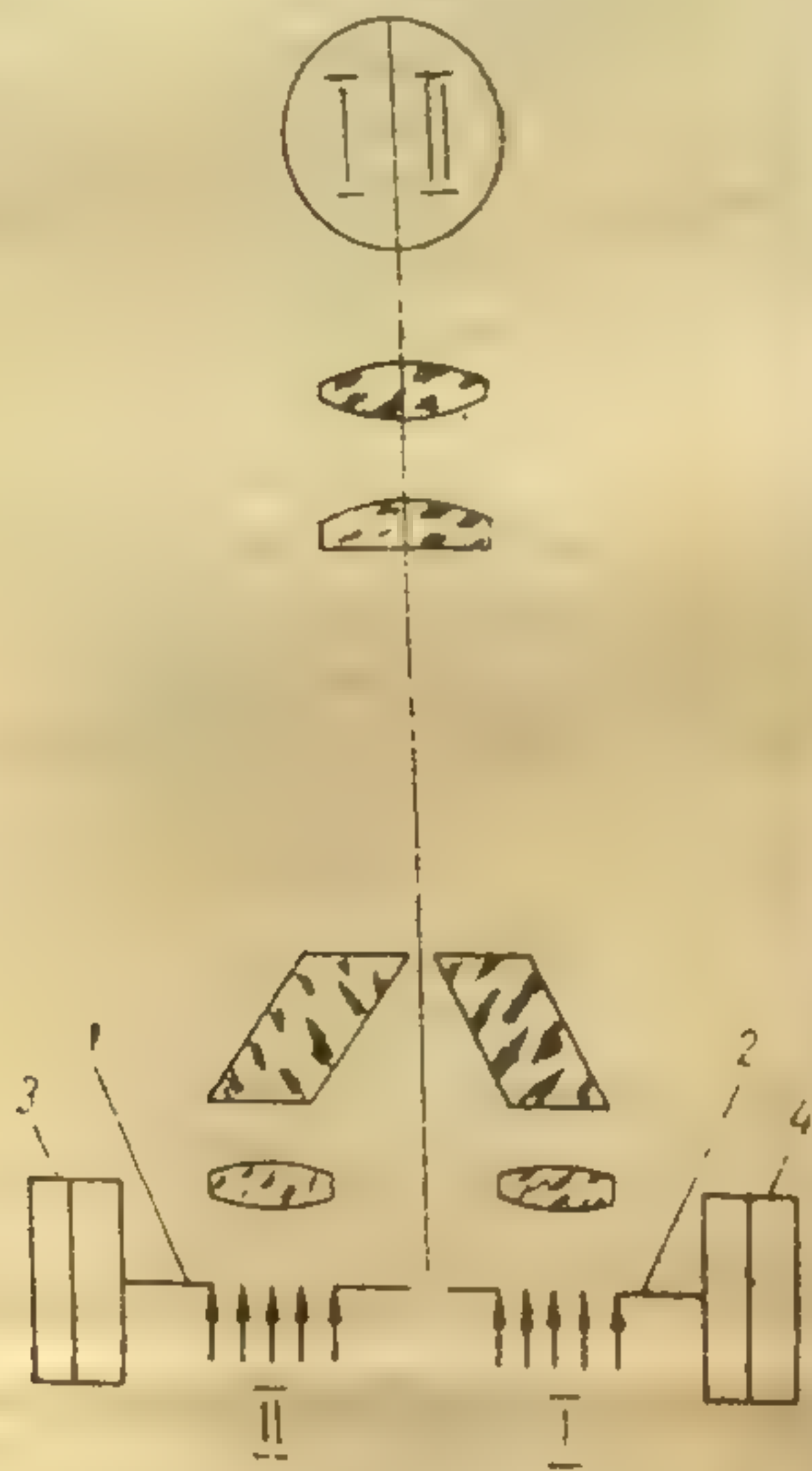


Рис. 29. Оптическая схема универсального фотометра ФМ-56

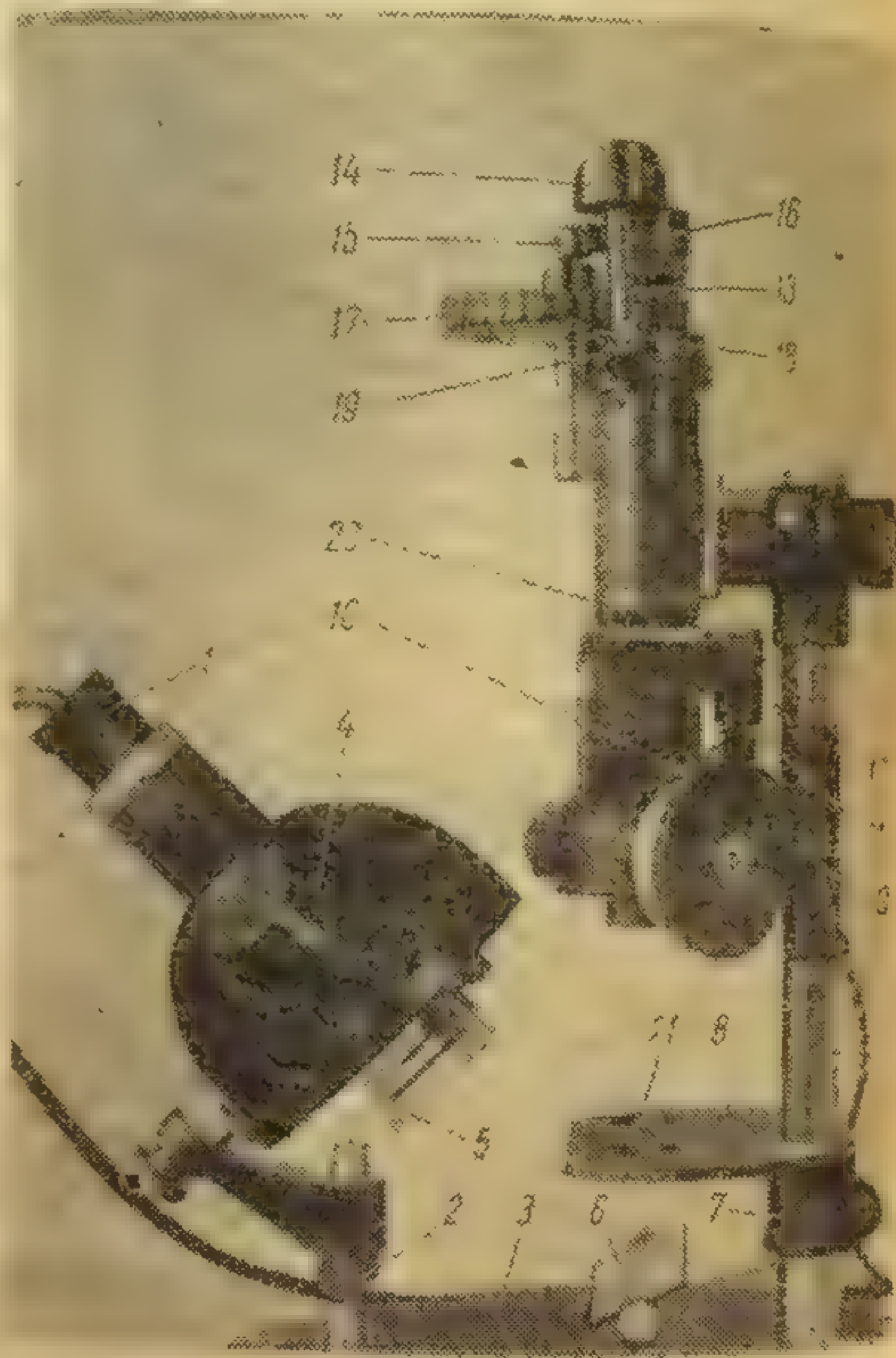


Рис. 30. Универсальный фотометр ФМ-53:

- 1 — патрон лампы; 2 — винт, фиксирующий положение осветителя (фотометрической лампы); 3 — штатив; 4 — осветитель; 5 — конденсатор; 6 — зеркало; 7 — винт, фиксирующий положение предметного столика; 8 — предметный столик; 9 — барабан; 10 — указатель; 11 — осветитель шкал; 12 — лупа; 13 — стойка; 14 — наглазник; 15 — выдвижная лупа; 16 — окуляр; 17 — диск со светофильтрами; 18 — кольцо для регулировки наглазника; 19 — ось наглазника; 20 — фотометрическая головка

стью раскрытыми и обе половины поля зрения будут иметь одинаковую освещенность. Если теперь на пути одного светового потока, например, поместить окрашенный раствор, то фотометрическое равенство нарушится, так как поле I станет менее ярким, потемнеет. Для того чтобы получить снова одинаковую освещенность полей, необходимо уменьшить яркость поля II, что достигается уменьшением отверстия диафрагмы 1, через которую проходит световой поток II.

На измерительных барабанах, связанных с диафрагмами, нанесено отношение (в %) площади S отверстия диафрагмы при данном ее раскрытии к площади S_0 при максимальном ее раскрытии. Площади отверстий диафрагм будут относиться между собой так, как световые потоки I и II.

Включение прибора (рис. 30). Прилагаемый к прибору трансформатор рассчитан на включение в сеть переменного тока на 220 или 127 в.

Перед началом работы необходимо проверить схему включения перемычек на основании трансформатора. Перемычки трансформатора должны быть установлены на включение в сеть переменного тока с напряжением в 220 в.

Один из штеккеров шнура фотометрической лампы вставляется в гнездо «0», другой — в гнездо 8 трансформатора, что соответствует выходному напряжению в 8 в, на которое рассчитана лампа фотометра. Штеккера осветителя шкал измерительных барабанов вставляются в гнезда трансформатора 4 и 16.

Пользуясь реостатом, рукоятка которого находится на крышке трансформатора (надпись «темнее — ярче»), можно регулировать величину накала нити лампы, а пользуясь выключателем на той же крышке, можно включать и выключать прибор без отключения трансформатора от сети.

Установка прибора в рабочее положение. Закрепляют осветитель на стойке штатива таким образом, чтобы световые пучки падали на зеркало, которое поворачивают так, чтобы входные отверстия фотометра были одинаково освещены. Оба измерительных барабана ставят на красный нуль оптической плотности.

Из конденсоров осветителя удаляют матовые рассеиватели, включают зеленый светофильтр № 5, фокусируют окуляр на линию раздела оптических полей зрения и наблюдают изображения спирали, видимые в каждой половине поля зрения. Если изображения не резки, то передвигают конденсоры.

Осветитель устанавливают, пользуясь винтом 2 и зеркалом 6, так, чтобы в каждой половине поля зрения была видна средняя равномерно накалившая часть спирали лампы.

После этого в пазы оправ конденсоров вставляют матовые рассеиватели, устанавливают лупу 14 над окуляром и проверяют заполнение диафрагмы светом. Для этого левый измерительный барабан устанавливают на значение оптической плотности « ∞ » (бесконечность), а правый — на красный нуль оптической плотности. Затем правый измерительный барабан ставят на значение оптической плотности « ∞ », а левый — на красный нуль. В обоих случаях диафрагмы, при просматривании в лупу, должны быть полностью и равномерно заполнены светом. По окончании проверки заполнения светом диафрагм лупу отводят в сторону. На этом установку прибора можно считать законченной, и им можно пользоваться для выполнения анализов.

Техника выполнения анализов. К прибору прилагаются три пары кювет, которые позволяют ввести в ход лучей прибора слои жидкостей толщиной в 1, 10 и 50 мм. В одну из кювет наливают исследуемый окрашенный раствор, в другую — растворитель (т. е. исследуемый раствор, к которому добавлены все необходимые реактивы, за исключением окрашивающего реагента). Если исследуемый раствор бесцветен, вместо растворителя можно использовать дистиллированную воду.

Толщина слоя раствора выбирается с таким расчетом, чтобы оптическая плотность раствора D находилась в пределах, обеспечивающих удобство и наибольшую точность измерений; эти пределы находятся в диапазоне значений оптической плотности 0,2—0,8. Следует заметить, что при выполнении анализов обычно не пользуются черной шкалой светопропускания, а только красной шкалой оптической плотности.

Техника выполнения анализов состоит в следующем:

1. Вращением револьверного диска устанавливают необходимый для данного определения светофильтр.

2. В одну кювету наливают исследуемый окрашенный раствор, в другую — растворитель (или дистиллированную воду) и закрывают их пробками, которые только наполовину должны быть погружены в раствор.

3. Слева, на столик, точно против отверстия, ставят кювету с растворителем (или с водой), справа — кювету с исследуемым окрашенным раствором.

4. Оба измерительных барабана устанавливают на нуль по красной шкале оптической плотности.

5. Вращением левого измерительного барабана устанавливают одинаковую интенсивность освещения обеих половинок поля зрения.

6. Отсчитывают значение оптической плотности раствора на красной шкале левого измерительного барабана. Нарушая положение фотометрического равновесия и снова добиваясь одинаковой интенсивности полей зрения, производят три отсчета оптической плотности и берут среднее значение.

7. Оба барабана снова устанавливают на красный нуль оптической плотности.

8. Кюветы меняют местами и вращением теперь уже правого измерительного барабана (над кюветой с водой) устанавливают одинаковую интенсивность освещения половинок поля зрения.

9. Оптическую плотность раствора отсчитывают по красной шкале правого измерительного барабана. Отсчетов делают не менее трех и берут среднее значение оптической плотности.

10. Из полученных значений оптической плотности на левом и правом измерительных барабанах находят среднее значение оптической плотности исследуемого раствора.

11. По значению оптической плотности D по калибровочной

кривой находят концентрацию определяемого вещества C в исследуемом растворе (или непосредственно в объекте анализа).

Примечание. Если при настройке прибора наблюдалась одинаковая интенсивность освещения половинок поля зрения при положении обоих измерительных барабанов на красном нуле, то пункты 7—10 можно опустить, т. е. можно производить расчеты только на левом измерительном барабане без перестановки кювет.

Построение калибровочной кривой. Для определения концентрации вещества в исследуемом растворе необходимо построить калибровочную кривую. Построение калибровочной кривой производится следующим образом. Приготавливают 5—6 стандартных растворов, охватывающих диапазон содержания определяемого вещества в исследуемых растворах.

Измерения оптической плотности указанным выше методом начинают с раствора, имеющего наибольшую концентрацию. Если полученное при этом значение оптической плотности составляет примерно 0,7—0,9, можно продолжать измерение растворов других концентраций. При значении оптической плотности, превышающем 1,0, рекомендуется подобрать кювету меньших размеров, если же величина оптической плотности окажется меньше 0,7, берут кювету больших размеров. Выбрав соответствующую кювету, проводят измерения остальных стандартных растворов.

Измерив оптические плотности серии стандартных растворов, на миллиметровой бумаге строят калибровочную кривую, откладывая на оси ординат оптическую плотность D , а на оси абсцисс — концентрации определяемого вещества C (в определенном объеме раствора или в объекте исследования).

Необходимо отметить, что определение оптических плотностей стандартных и исследуемых растворов, содержащих данное определяемое вещество, должно производиться в кюветах одних и тех же размеров с применением одного и того же светофильтра.

На рис. 31 приводим калибровочную кривую для фотометрического определения фосфора в кормах. Калибровочную кривую следует время от времени проверять.

Выбор светофильтра. Выполнение анализов на универсальном фотометре ФМ-56 проводится с применением правильно выбранного светофильтра для измерения оптической плотности растворов, содержащих данное вещество. Измерения, требуемые для построения калибровочной кривой, так же, как и последующие измерения исследуемых растворов, необходимо проводить с одним и тем же светофильтром. Обычно в фотометрических методиках приводятся эффективные длины волн $\lambda_{эф}$ для тех или иных определений, по которым, пользуясь паспортом прибора, можно найти соответствующие номера светофильтров. В тех случаях, когда отсутствуют указания о светофил-

ре, применяемом для данного исследования, необходимо произвести выбор светофильтра. Опишем два способа выбора.

1. Снимают спектральную характеристику исследуемого раствора, т. е. определяют его оптическую плотность на всех светофильтрах, имеющихся в приборе. На основе полученных данных на миллиметровой бумаге строят график, откладывая на оси ординат оптическую плотность D , а на оси абсцисс — эффективную длину волны $\lambda_{эф}$ в $m\mu$ (или номер) светофильтра.

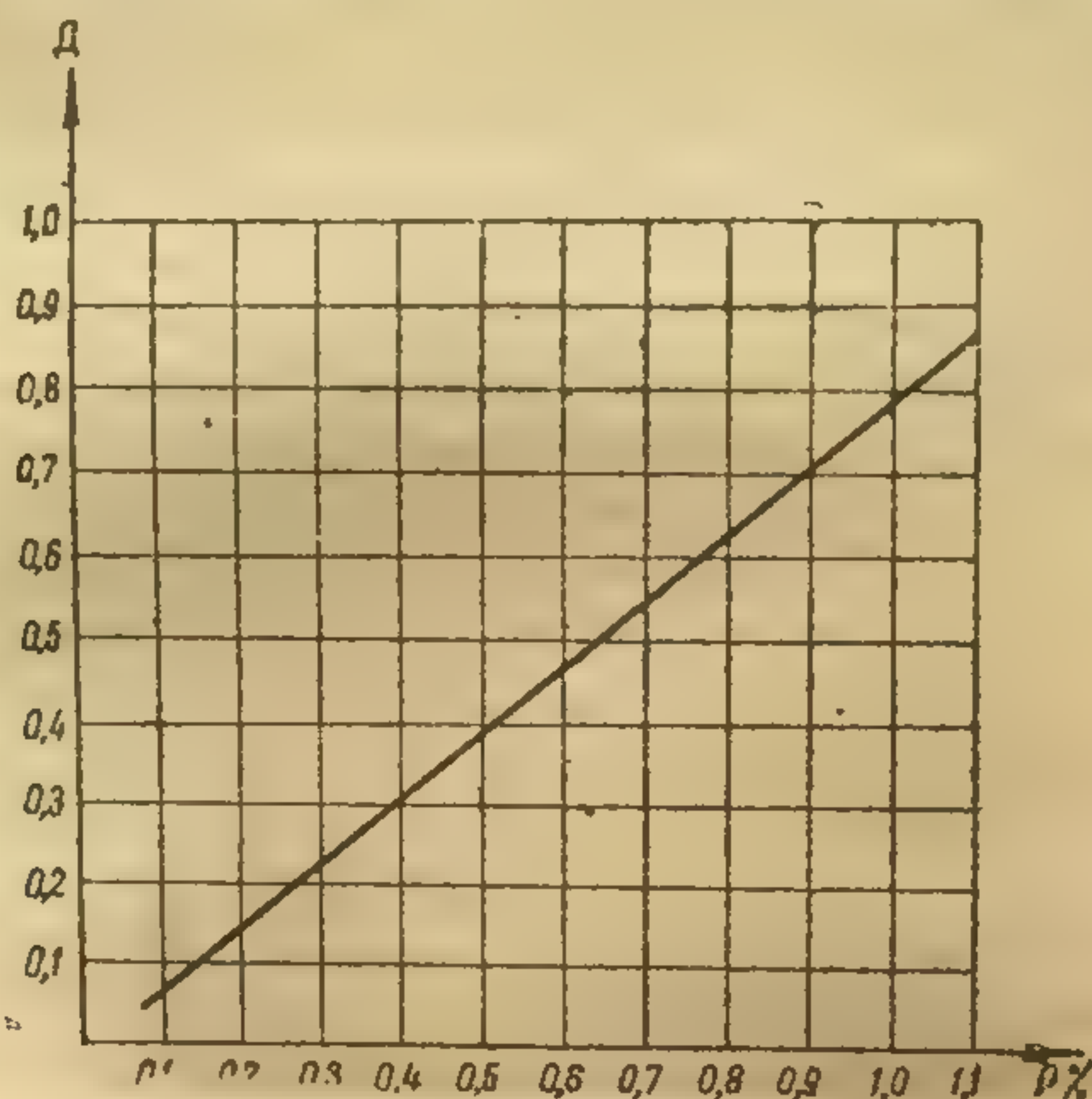


Рис. 31. Калибровочная кривая для определения фосфора

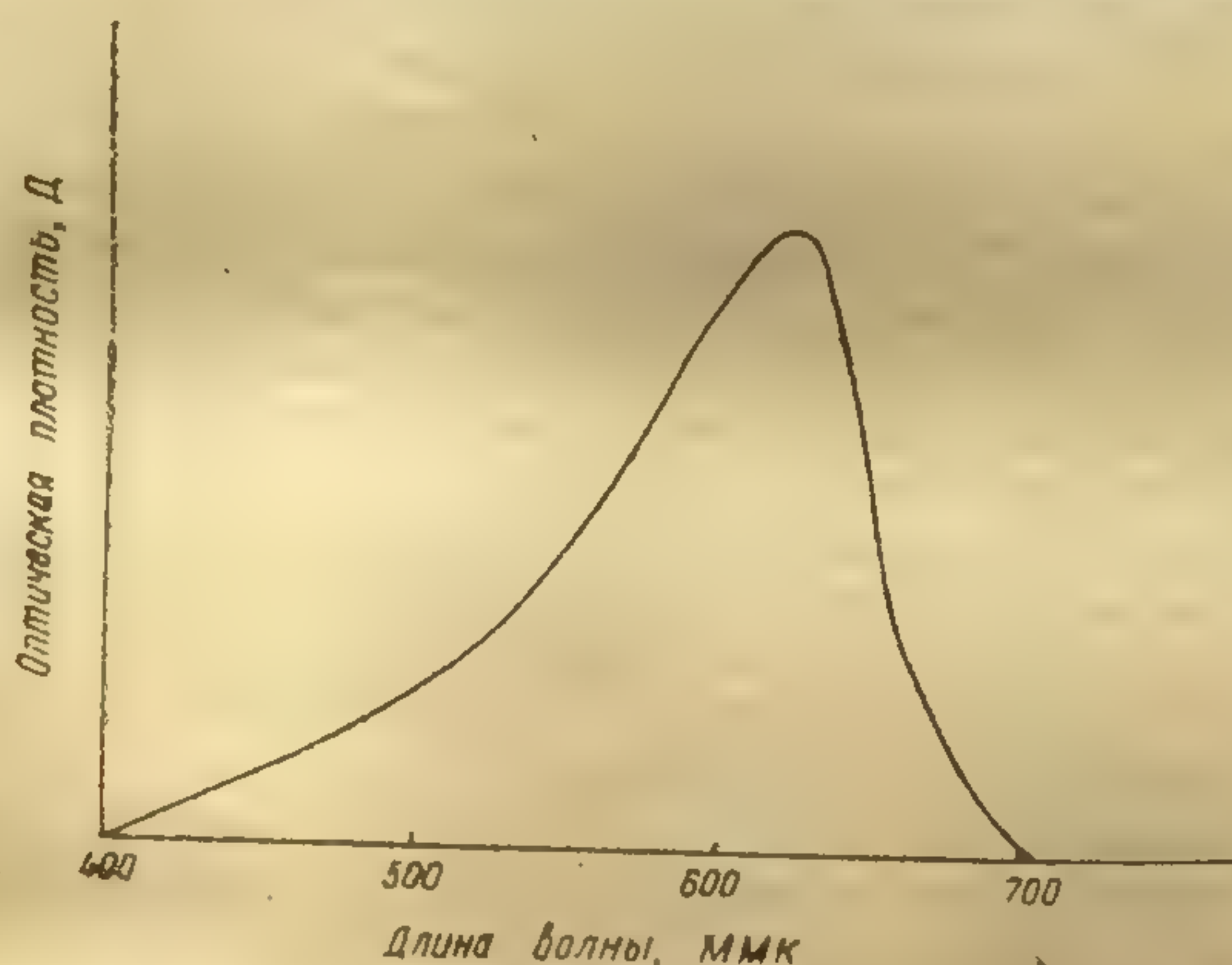
Светофильтр для данного определения выбирается с таким расчетом, чтобы его эффективная длина волны приходилась на участок спектральной кривой, имеющий максимум оптической плотности, или на ту часть спектральной кривой, которая имеет подъем, идущий почти параллельно оси абсцисс.

В качестве примера приводим на рис. 32 спектральную кривую синего раствора, подготовленного для определения фосфора в кормах. Для работы с этим раствором следует пользоваться светофильтром, имеющим эффективную длину волны $\lambda_{эф} = 619 m\mu$. Обращаемся к паспорту прибора и находим, что $\lambda_{эф} = 619 m\mu$ отвечает светофильтр М-61. Мы здесь в качестве примера использовали данные универсального фотометра ФМ-56 № 23077 выпуска 1962 г. Но принцип подхода к выбору светофильтра остается тем же, независимо от номера прибора и выпускного аттестата.

2. Берут два исследуемых или два стандартных раствора соседних порядковых номеров и определяют их оптическую

плотность на всех светофильтрах прибора (разумеется, кроме тех, которые дают различные цвета половинок поля зрения). Затем находят разность оптических плотностей двух растворов для различных светофильтров. Для работы с данным раствором выбирают светофильтр, который дает наибольшую разность оптической плотности D .

При выборе светофильтра можно учитывать и то обстоятельство, что при работе с окрашенными растворами берут свето-



Р и с. 32. Спектральная характеристика растворов фосфора

фильтр, цвет которого является дополнительным к цвету исследуемого раствора. Так, например, для синего раствора выбирают красный светофильтр, для красного раствора — синий.

ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА

Фотоколориметрическим или фотоэлектроколориметрическим называется метод, основанный на фотометрировании (измерении) количества света, прошедшего через окрашенный раствор, с помощью фотоэлементов. Под воздействием света в фотоэлементе возникает электрический ток, пропорциональный интенсивности освещения. Сила тока измеряется чувствительным прибором — гальванометром, по показаниям которого находят концентрацию определяемого вещества в растворе.

Фотоэлементом называется прибор, в котором световая энергия превращается в электрическую. Работа фотоэлемента основана на явлении фотоэффекта. Фотоэффектом называется отрыв электронов от атомов вещества под влиянием освещения.

В связи с тем, что между интенсивностью светового потока и силой электрического тока, развиваемого фотоэлементом, су-

существует прямая пропорциональность, фотоэлектроколориметрический метод анализа подчиняется тем же закономерностям, которые лежат в основе фотометрии.

Фотоколориметрическая аппаратура

Существует много схем фотоколориметров, из которых наибольшее распространение получили две: 1) схема прямого действия с одним фотоэлементом и 2) дифференциальная схема с двумя фотоэлементами.

Сущность работы фотоколориметра прямого действия заключается в следующем: на пути светового потока помещают светофильтр и кювету с окрашенным раствором. Из раствора свет попадает на фотоэлемент, в котором возникает соответствующая сила тока, измеряемая гальванометром. По показаниям шкалы гальванометра, пользуясь калибровочной кривой, находят содержание вещества в растворе. Схема отличается простотой, но интенсивность освещенности зависит от колебаний напряжения в сети переменного тока. В связи с этим схема прямого действия распространения не получила.

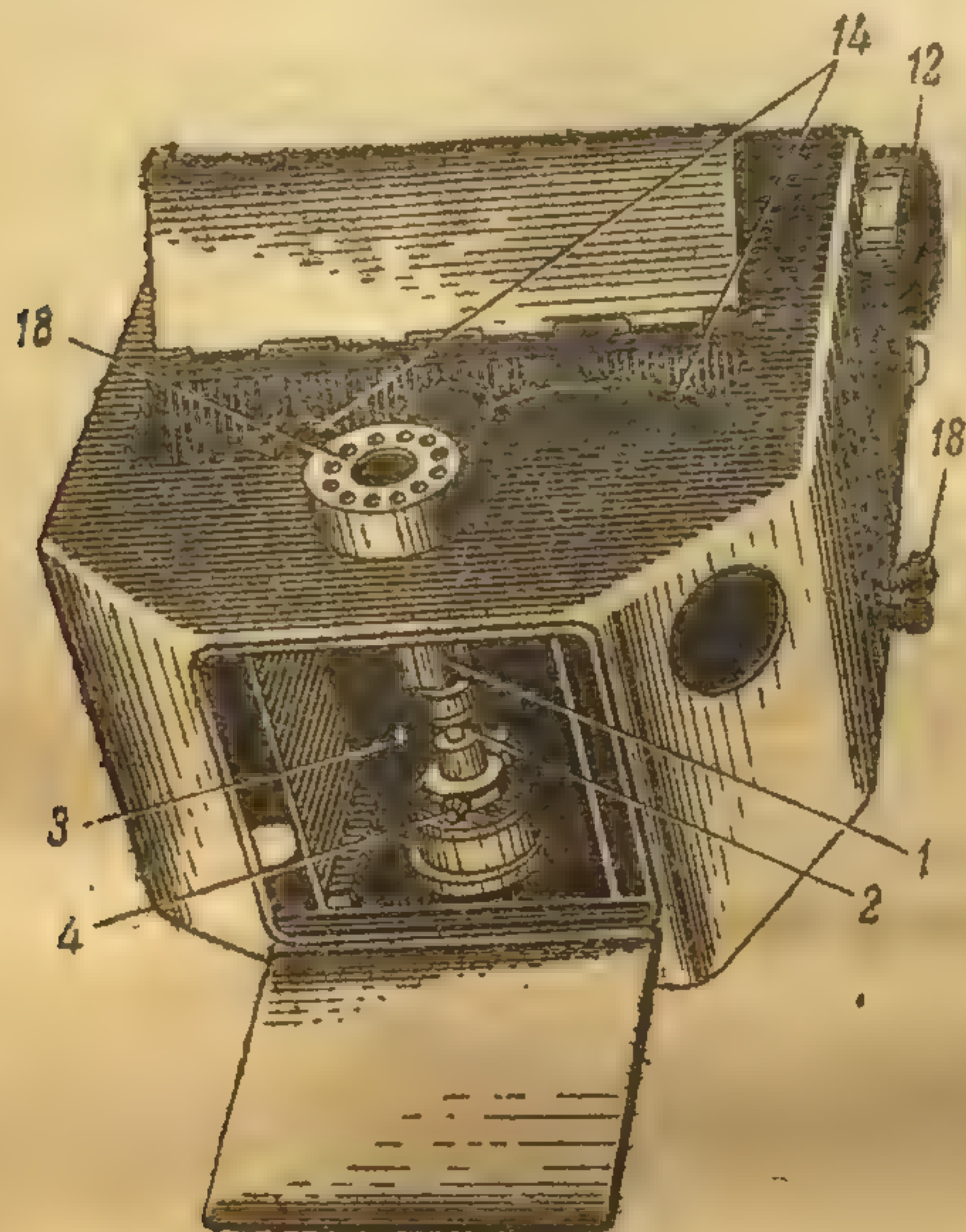
Широкое применение в лабораториях получила дифференциальная схема. Действие приборов, работающих по этой схеме, основано на оптической компенсации фототоков: при одинаковой освещенности обоих фотоэлементов (включенных навстречу один другому) токи от них в цепи гальванометра взаимно компенсируются и стрелка гальванометра остается на нуле. При затемнении одного фотоэлемента кюветой с окрашенным раствором компенсация фототоков нарушается и стрелка гальванометра отклоняется от нуля. Для восстановления компенсации фототоков сужают отверстие диафрагмы над вторым фотоэлементом и вновь устанавливают стрелку гальванометра на нуль. Диафрагма связана с измерительным барабаном, имеющим черную шкалу светопропускания T и красную шкалу оптической плотности D . Показания этих шкал являются мерой поглощения света исследуемым раствором.

Основным преимуществом фотоколориметров, работающих по дифференциальной схеме, является то, что на результатах измерений не отражается непостоянство напряжения в сети переменного тока. Колебания в сети взаимно уравниваются, поскольку токи обоих фотоэлементов проходят через гальванометр в противоположных направлениях.

По дифференциальной схеме работают фотоэлектроколориметры ФЭК-М и ФЭКН-54, 56 и 57.

Фотоэлектроколориметр ФЭК-М (рис. 33 и 34). Применяется для колориметрических определений, измерения оптической плотности D и светопропускания окрашенных растворов T . В качестве приемников световой энергии используются вентильные селеновые фотоэлементы. Фотоколориметр работает

по принципу оптической компенсации двух световых потоков с помощью щелевой диафрагмы. Оптическая схема прибора приведена на рис. 35. Свет от лампы накаливания 1 проходит соответственно конденсаторы 2 и 2¹ и теплозащитные стекла 3 и 3¹, поглощающие инфракрасное (тепловое) излучение лампы и тем самым предохраняющие исследуемый раствор и фотоэлементы от нагревания. Зеркала 4 и 4¹ направляют световые пучки через светофильтры 5 и 5¹, линзы 6 и 6¹ в кюветы 7 и 7¹.

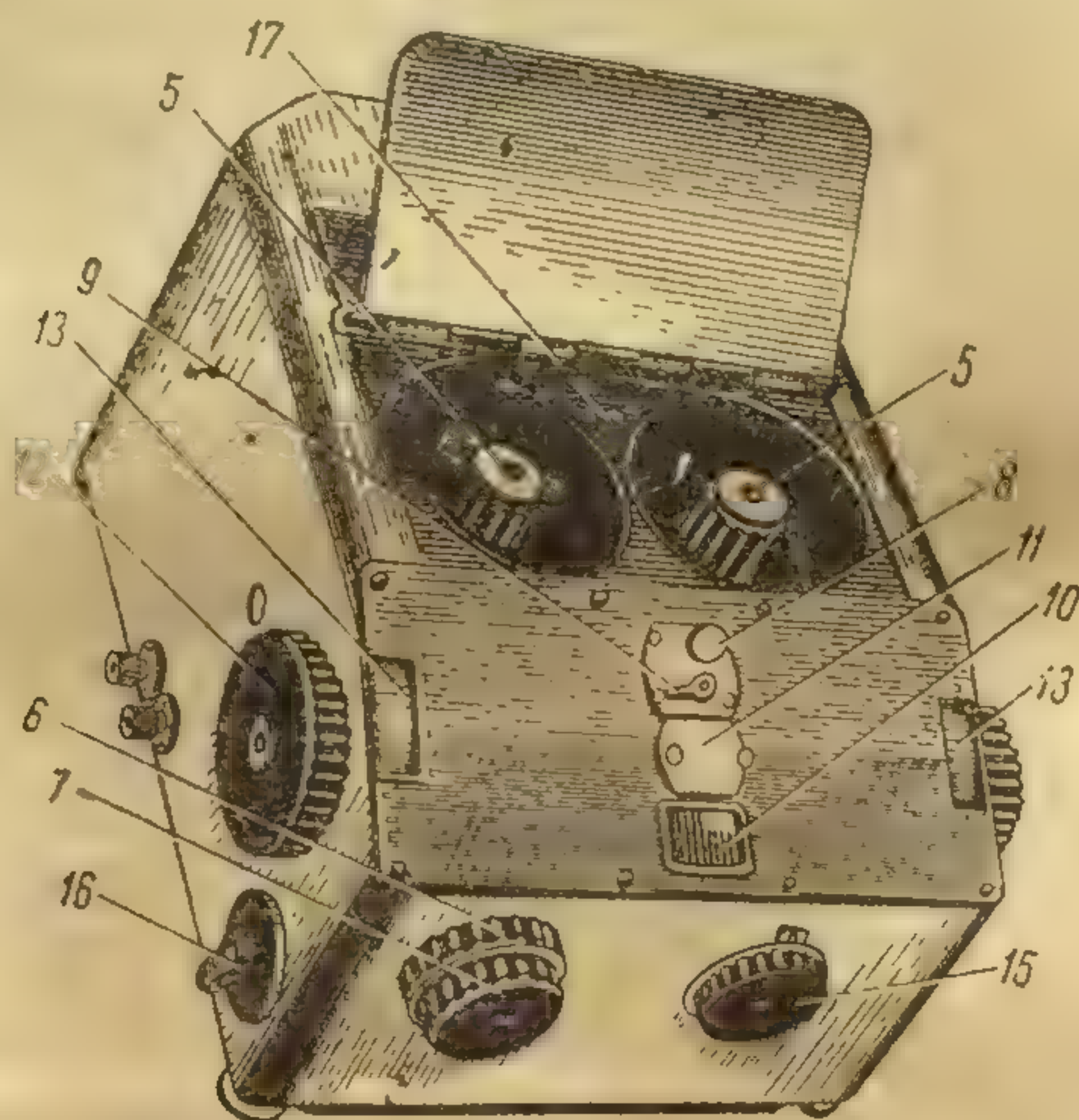


Р и с. 33. Фотоэлектроколориметр ФЭК-М
Фотометрический узел;

1 — фотометрическая лампа; 2 — патрон лампы; 3, 4 — установочные винты; 12 — измерительный барабан (левый); 14 — узел светофильтров; 18 — клеммы для внешнего гальванометра

Вышедший из кювет свет с помощью линз 8 и 8¹, а также призм 9 и 9¹ проектируется на чувствительные поверхности фотоэлементов 14 и 14¹ с запирающим слоем. На пути лучей с одной стороны можно ввести два круговых серых клина 10 и 11 для ослабления светового потока, падающего на фотоэлемент 14. Один клин большей, а другой — меньшей оптической плотности. На пути светового луча, падающего на фотоэлемент 14¹, находится щелевая диафрагма 12. При вращении

связанного с ней измерительного барабана 13 меняется просвет диафрагмы и тем самым изменяется величина светового потока, падающего на фотоэлемент 14¹. Возникающие в фотоэлементах токи текут по рамке гальванометра в противоположных направлениях, поэтому при одинаковом количестве света, падающего на оба фотоэлемента, стрелка гальванометра стоит на нуле.



Р и с. 34. Фотоэлектроколориметр ФЭК-М
Панели управления:

5 — держатели кювет; 6 — круговой нейтральный клин грубой настройки; 7 — клин тонкой настройки; 8 — корректор гальванометра; 9 — арретир гальванометра; 10 — окошко с линзой для наблюдения за стрелкой гальванометра; 11 — крышка патрона осветительной лампы; 12 — измерительный барабан; 13 — шкала для отсчетов показаний прибора; 15 — рукоятка узла светофильтров; 16 — переключатель чувствительности гальванометра; 17 — рукоятка для открывания и закрывания шторок

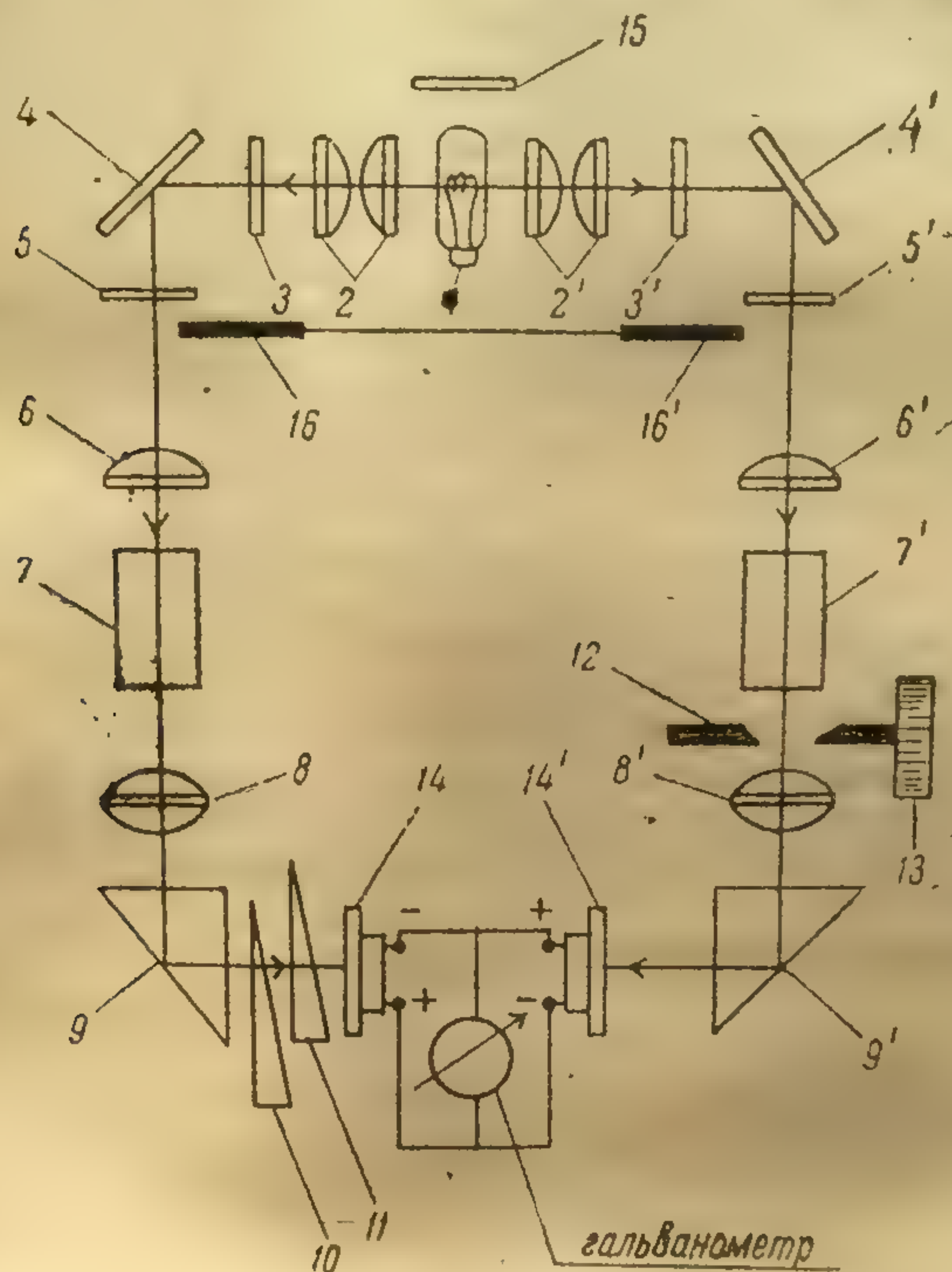
Красное стекло 15 над фотометрической лампой является индикатором включения прибора, а шторки 16 и 16¹ дают возможность, не выключая фотоэлектроколориметра, перекрывать световые лучи во время установки на нуль гальванометра и небольших перерывов в работе.

Подготовка прибора к работе. 1. Проверяют, на какое напряжение сети переменного тока установлено питающее устройство прибора (феррорезонансный стабилизатор напряжений).

2. Посредством специальной колодки электрошнура в гнездо прибора включают стабилизатор напряжения, питающий фотометрическую лампу прибора.

3. Электрошнур стабилизатора напряжения включают в сеть переменного тока.

4. Выключатель стабилизатора поворачивают к индексу «Включено». При этом под красным стеклом (на верхней крышке прибора) загорается фотометрическая лампа 1 (рис. 33).



Р и с. 35. Оптическая схема фотоэлектроколориметра ФЭК-М

5. Открывают верхнюю крышку для кювет и прикрывают световые окошки кусочками папиросной бумаги, на которых должно появиться четкое симметричное (в центре окошка) изображение нити лампы. В случае размытого несимметричного изображения нити или вообще его отсутствия положение фотометрической лампы регулируют по высоте винтом 4, а в горизонтальной плоскости — винтами 3 до появления четкого изображения нити в центре светового окошка.

6. Поворотом ручки 17 (или кнопки) вправо закрывают шторками световые окошки (рис. 34).

7. Арретир гальванометра 9 поворачивают к индексу «Открыто».

8. Через окошко с линзой наблюдают за положением стрелки гальванометра. Если стрелка сошла с нуля, то ее устанавливают на нуль вращением ручки корректора 8.

Примечание. Имеется модель фотоэлектроколориметра ФЭК-М с внешним гальванометром М 117/2, который подключается к клеммам на левой стороне прибора с помощью прилагаемого к гальванометру провода. Гальванометр М 117/2 не имеет арретира. Стрелку устанавливают на нуль, вращением головки винтового корректора на футляре гальванометра.

9. Поворотом ручки 17 (под крышкой для кювет) влево открывают световые окошки.

10. Поворотом ручки светофильтров 15 включают светофильтр, который будет применяться для анализа исследуемого раствора.

11. Левый измерительный барабан 12 устанавливают на нуль по красной шкале оптической плотности.

12. В таком положении прибор оставляют включенным на 10—15 минут для установления стационарного режима накала фотометрической лампы и стабильного режима работы фотоэлементов.

Техника выполнения анализов. Начинать работу следует с выбора кювет: из прилагаемых к прибору двух комплектов берут три кюветы одинаковых размеров с расстояниями между рабочими гранями 50, 30, 20, 10, 5, 3 и 1 мм. При работе с сильно окрашенными растворами надо пользоваться кюветами с малым расстоянием между рабочими плоскостями (1—3 мм), со слабо окрашенными растворами — с большим расстоянием (30—50 мм).

Оптическая плотность исследуемых растворов измеряется в кюветах тех же размеров, какие применялись при получении калибровочной кривой.

Техника фотоколориметрических определений включает следующие операции.

1. Берут три кюветы одинаковых размеров. В две из них наливают до метки дистиллированную воду или растворитель (исследуемый раствор со всеми реактивами, за исключением окрашивающего реагента), а в третью кювету — окрашенный исследуемый раствор.

2. В левый кюветодержатель ставят кювету с водой (или растворителем), в правый — две кюветы, одну с водой, другую с окрашенным раствором.

3. Еще раз проверяют правильность включения светофильтра, необходимого для работы с данным раствором.

4. Измеряют оптическую плотность растворов по красной шкале. Это делают двумя способами: при измерении D первым способом отсчеты производятся по левому измерительному барабану, вторым — по правому барабану. Шкала оптической

плотности левого барабана имеет пределы измерений 0—2,00, шкала правого барабана — 0—0,52, причем точность измерений на участке шкалы 0,15—0,52 выше, чем на левом барабане. На правом барабане могут производиться измерения только тех растворов, оптическая плотность которых не превышает 0,52.

Первый способ измерений. 1. Левый измерительный барабан устанавливают на красный нуль оптической плотности D .

2. Поворотом кюветодержателей в левый луч света ставят кювету с водой (или растворителем), в правый луч — кювету с исследуемым окрашенным раствором. Перед поворотом кюветодержатель необходимо приподнять так, чтобы он вышел из фиксирующего штифта, и в этом положении поворачивать до совмещения белой точки кюветодержателя с белой чертой на корпусе, а затем опустить кюветодержатель.

3. Переключатель чувствительности гальванометра 16 поворачивают на индекс «1» и устанавливают стрелку гальванометра на нуль вращением рукояток 6 и 7 кругового фотометрического клина. Грубая настройка производится посредством рукоятки 6, тонкая — с помощью рукоятки 7.

4. Такую же установку стрелки гальванометра повторяют на последней ступени переключателя чувствительности «2», после чего переключатель возвращают на индекс «0».

5. В правый и левый лучи света вводят кюветы с дистиллированной водой (или растворителем).

6. Переключатель чувствительности поворачивают на индекс «1» и устанавливают стрелку гальванометра на нуль вращением левого измерительного барабана 12. Затем переключатель ставят на индекс «2» и снова устанавливают на нуль стрелку гальванометра.

7. Величину оптической плотности раствора отсчитывают по красной шкале левого барабана. Отсчеты повторяют 2—3 раза, нарушая нулевое положение гальванометра и снова устанавливая стрелку на нуль на последней ступени чувствительности, т. е. на положение переключателя «2».

8. После отсчетов оптической плотности переключатель чувствительности гальванометра обязательно возвращают на «0».

Второй способ измерений. 1. Правый измерительный барабан устанавливают на красный нуль оптической плотности (или на 100 делений черной шкалы светопропускания T).

2. В правый и левый световые потоки вводят кюветы с водой (или растворителем).

3. Вращением круговых фотометрических клиньев устанавливают стрелку гальванометра, сначала при положении переключателя чувствительности на индекс «1», а затем на индекс «2», после чего переключатель возвращают на «0».

4. В правый световой поток вводят кювету с окрашенным раствором (в левом световом потоке помещается по-прежнему кювета с водой).

5. Вращением правого измерительного барабана стрелку гальванометра устанавливают на нуль при положении переключателя на индексе «1» и затем — на индексе «2» (точная настройка).

6. Величину оптической плотности раствора отсчитывают по красной шкале правого измерительного барабана, после чего переключатель чувствительности гальванометра возвращают на индекс «0».

Приведение прибора в нерабочее состояние

1. Выключатель стабилизатора напряжения поворачивают на индекс «Выключено», после чего электрошнур прибора выключают из сети переменного тока.

2. Арретир гальванометра ставят в положение «Закрывается».

3. Удаляют кюветы из кюветодержателей, промывают их дистиллированной водой, протирают снаружи мягкой фланелевой салфеткой и ставят на свои места в коробки.

Построение калибровочной кривой и выбор светофильтров производятся так, как это приведено в описании универсального фотометра ФМ-56.

Фотоэлектроколориметр ФЭКН-57

Оптическая схема фотоэлектроколориметра-нефелометра ФЭКН-57 аналогична схеме прибора ФЭК-М. В отличие от последнего ФЭКН-57 снабжен большим числом светофильтров, что расширяет возможности определений. Кроме того, пользуясь прибором ФЭКН-57, можно проводить нефелометрические определения.

Поскольку в качестве приемников световой энергии здесь использованы вакуумные сурьмяно-цезиевые фотоэлементы, возникла необходимость в усилении фототоков. Это осуществляется с помощью лампового усилителя постоянного тока.

Осветитель, фотоэлементы и усилитель питаются от отдельного устройства, включающего стабилизатор напряжения и два выпрямителя. Блок питания подключается к прибору специальным кабелем. Перед работой прибор должен быть надежно заземлен.

Переключатель чувствительности гальванометра наряду с положениями «0», «1» и «2» имеет еще одно положение — «3», соответствующее наивысшей чувствительности. Перед измерениями необходимо:

1. Арретир поставить на положение «Открыто», переключатель чувствительности гальванометра установить на нуль и закрыть шторками световые окошки прибора.

2. Вращением корректора установить стрелку гальванометра на нуль.

3. Переключатель чувствительности поставить в положение «1» и вращением рукоятки реостата настройки установить

«электрический нуль» прибора, т. е. вращением рукоятки реостата настройки (находится на правой стороне прибора под измерительным барабаном) установить стрелку гальванометра на нуль. Такую же установку стрелки гальванометра на нуль следует произвести на положении переключателя «2» и «3» и затем переключатель чувствительности снова возвратить на нуль.

4. Открыть световые окошки, включить необходимый номер светофильтра и дать прибору прогреться в течение 15—20 минут для того, чтобы он вошел в стабильный режим работ. По истечении этого времени можно приступать к измерению оптической плотности исследуемых растворов, которое осуществляется точно так же, как и на приборе ФЭК-М.

Для снятия спектральной характеристики раствора (для выбора светофильтра) необходимо измерить его оптическую плотность при разных длинах волн. Для этого используют светофильтры №№ 1—8, имеющие довольно узкую полосу (ширину) пропускания в пределах 40 *м*μ. Максимальное пропускание для них соответствует следующим длинам волн в *м*μ:

№ светофильтра	1	2	3	4	5	6	7	8
Длина волны	360	414	453	508	536	584	610	656

Фильтры №№ 9—11, имеющие более широкую полосу пропускания, применяются при нефелометрировании. При этих измерениях переключатель указателя рода работы, находящийся в правом углу верхней панели прибора, устанавливают на индекс «Н». Кроме того, для проведения нефелометрических определений на линзы перед кюветами надевают диафрагмы, сужающие световой поток.

При проведении колориметрических определений указатель рода работы должен стоять на индексе «К».

ЭЛЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ВОДОРОДНЫХ ИОНОВ (рН)

Концентрация водородных ионов (рН), или реакция среды, является важным фактором, оказывающим большое влияние на ход биохимических и биологических процессов в организме. Отсюда возникает необходимость наряду с другими показателями определять концентрацию водородных ионов в различных биологических жидкостях.

Кислая реакция обуславливается концентрацией водородных ионов H^+ , щелочная — концентрацией гидроксильных ионов OH^- .

В водных растворах всегда имеются как водородные, так и гидроксильные ионы. Если их концентрации равны, то реакция нейтральная. Если преобладают водородные ионы H^+ , то реакция раствора кислая, и наоборот, при избыточной концентрации гидроксильных ионов — раствор щелочной. Существует определенная математическая зависимость между концентрациями во-

дородных и гидроксильных ионов. Если обозначить концентрацию ионов H^+ через C_{H^+} и концентрацию ионов OH^- через C_{OH^-} , то $C_{H^+} \cdot C_{OH^-} = 1 \cdot 10^{-14}$, т. е. произведение концентраций ионов H^+ и OH^- в растворах является постоянным и равно $1 \cdot 10^{-14}$. При нейтральной реакции $C_{H^+} = C_{OH^-} = 1 \cdot 10^{-7}$, так как $10^{-7} \cdot 10^{-7} = 10^{-14}$. Если реакция раствора кислая, то $C_{H^+} > 10^{-7}$, при щелочной реакции $C_{H^+} < 10^{-7}$.

Чтобы не иметь дело со степенями с отрицательными показателями, которые являются громоздкими и неудобными при сопоставлении различных концентраций водородных ионов, был введен так называемый водородный показатель. Это — отрицательный логарифм концентрации водородных ионов, который обозначается символом pH . Например, для концентрации $C_{H^+} = 10^{-7}$:

$$- \lg 10^{-7} = -(-7) = 7.$$

Следовательно, нейтральная реакция характеризуется pH , равным 7. В растворе с кислой реакцией pH меньше 7, в растворах со щелочной реакцией больше 7. Вся шкала занимает интервал от 0 до 14.

pH растворов определяется двумя методами — колориметрическим и электрометрическим.

Наиболее простым является колориметрический метод, основанный на свойстве некоторых индикаторов изменять свою окраску в зависимости от концентрации водородных ионов. Для этой цели пользуются универсальным индикатором или индикаторными бумажками, а также набором Михаэлиса или Алямовского. Этот метод прост в выполнении, не требует специальной сложной аппаратуры. Ограничивает использование метода его малая точность, не отвечающая запросам биологических исследований, и невозможность проводить определения в окрашенных и мутных растворах.

Электрометрический метод позволяет определять pH в окрашенных, мутных растворах и суспензиях, отличается быстротой и дает возможность определять pH с точностью $\pm 0,05$.

Принцип метода. Известно, что если опустить электрод (пластинку) из какого-либо металла в раствор, содержащий ионы этого же металла, между ними возникает разность потенциалов, зависящая от природы металла и концентрации его ионов в растворе. Если в раствор опустить еще стандартный электрод с хорошо известным и устойчивым потенциалом, то электродвижущая сила (ЭДС) полученного гальванического элемента будет зависеть от концентрации ионов металла в растворе. На этой зависимости основано электрометрическое определение концентрации водородных ионов или значения pH .

Для определения pH используются гальванические элементы, получающиеся при опускании в исследуемый раствор двух электродов. Один из них является индикаторным, потенциал которого зависит от концентрации водородных ионов, другой пред-

ставляет стандартный электрод или электрод сравнения с хорошо известным устойчивым потенциалом. Электродвижущая сила гальванического элемента измеряется с помощью специального прибора — потенциометра или рН-метра, на шкале которого прочитывается значение рН исследуемого раствора.

В качестве индикаторных электродов применяются водородный, хингидронный, сурьмяный и стеклянный электроды. Что касается электродов сравнения, то ими служат насыщенный каломельный и хлорсеребряный электроды. В настоящее время при измерении рН в биологических жидкостях наиболее широко применяется стеклянный электрод, позволяющий получить надежные данные в интервале значений рН от 0 до 10.

Типичная форма стеклянного электрода показана на рисунке 36. Это — стеклянная трубка с тонкостенным шариком на конце. Внутри нее (и в шарике) находится раствор, содержащий ионы водорода с известной постоянной концентрацией (буферный раствор), и электрод сравнения, например хлорсеребряный. Отверстие трубки герметически закрывается. Собранный электрод погружают в исследуемый раствор в паре со стандартным (насыщенным каломельным) электродом.

Стеклянный электрод адсорбирует на своей поверхности активные свободные ионы водорода, что обуславливает возникновение электрического потенциала на поверхности стеклянного шарика. Электродвижущая сила (ЭДС) полученного гальванического элемента зависит от содержания ионов водорода в исследуемом растворе. Кроме того, часто возникают незначительные добавочные потенциалы, возможно вследствие напряжений в стекле. Их называют потенциалами асимметрии. Ввиду неопределенности этих потенциалов стеклянный электрод калибруют по буферным растворам с известным рН.

Высокое электрическое сопротивление стекла заставляет применять в качестве измерительного прибора ламповый вольтметр вместо потенциометра. Наиболее распространенными у нас приборами такого типа являются ламповые потенциометры типа ППН-58 и ЛП-58, которые называются рН-метрами. Они содержат все необходимые для измерений потенциометрические и электронные цепи и не требуют вспомогательных приспособлений. Особенно большое распространение получил рН-метр ЛП-58. Он предназначен не только для измерения рН, но и для измерения окислительно-восстановительного потенциала и потенциометрического титрования.

Перед применением стеклянный электрод (прибора ЛП-58) должен в течение 1—2 часов находиться в дистиллированной воде или, при ежедневных измерениях, храниться в ней постоянно.



Рис. 36.
Стеклянный электрод

но. Воду периодически освежают. Перед измерением электрод просматривают: жидкость должна заполнять шарик электрода, в противном случае электрод осторожно встряхивают. После измерений нельзя оставлять электрод в испытуемом растворе, особенно в щелочном, чтобы избежать разрушения шарика.

В каломельный электрод, через боковое отверстие, по мере надобности следует доливать насыщенный раствор хлористого калия с таким расчетом, чтобы внутренняя (белая) трубочка электрода была погружена в него на 10—12 мм.

Ниже приводится ход работы при определении рН с помощью рН-метра ЛП-58 (рис. 37 А и Б).

I. Подготовка прибора к работе

1. При помощи отвертки стрелку гальванометра устанавливают точно на нуль.

2. Прибор включают в сеть переменного тока, для чего электрошнур вставляют в гнездо (127—220 в) на правой стороне прибора, а вилку шнура включают в сеть переменного тока напряжением в 127—220 в.

3. Выключатель «В» (на правой стороне прибора) переключают на индекс «Вкл». При этом вспыхивает красная индикаторная лампочка на передней панели прибора.

4. Дают прогреться радиолампам в течение 5—10 минут.

5. В штатив устанавливают пару электродов: каломельный и стеклянный.

6. Штеккер шнура каломельного электрода вставляют в гнездо «Кл» (на левой стороне прибора), а штеккер шнура стеклянного электрода — в гнездо «Ст» до упора, придерживают рукой и закрепляют в таком положении зажимным винтом.

II. Настройка прибора

1. Вращением рукоятки реостата I («Настр. усил.») стрелку гальванометра устанавливают на нуль.

2. Ключ K_2 ставят на индекс «Р», а ключ K_1 — на индекс «—мв».

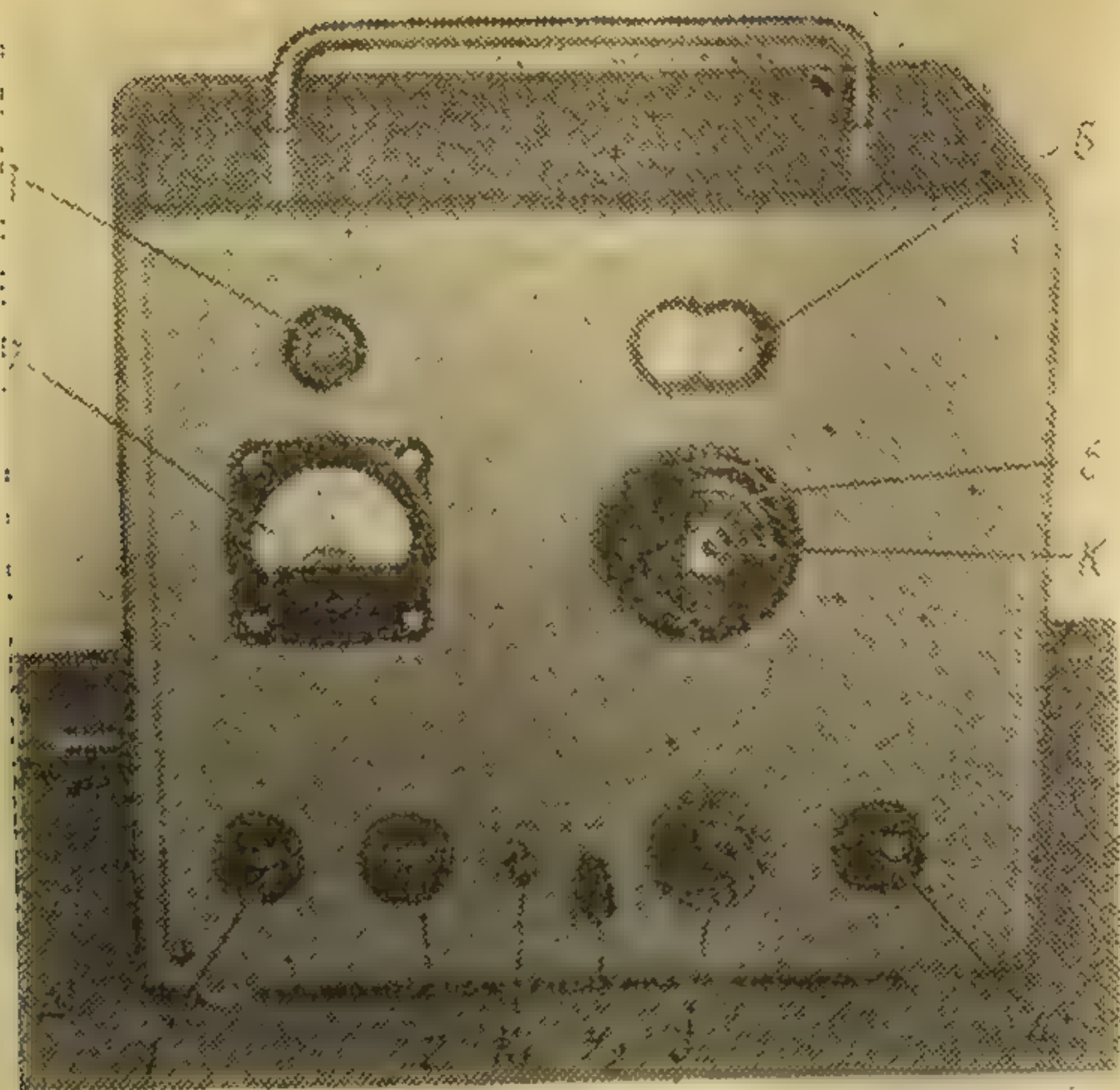
3. На несколько секунд ключ K_2 замыкают на индекс «НЭ» и вращением реостата 4 («Настр.» по «НЭ») устанавливают стрелку гальванометра на нуль.

4. Ключ K_1 устанавливают на индекс «рН».

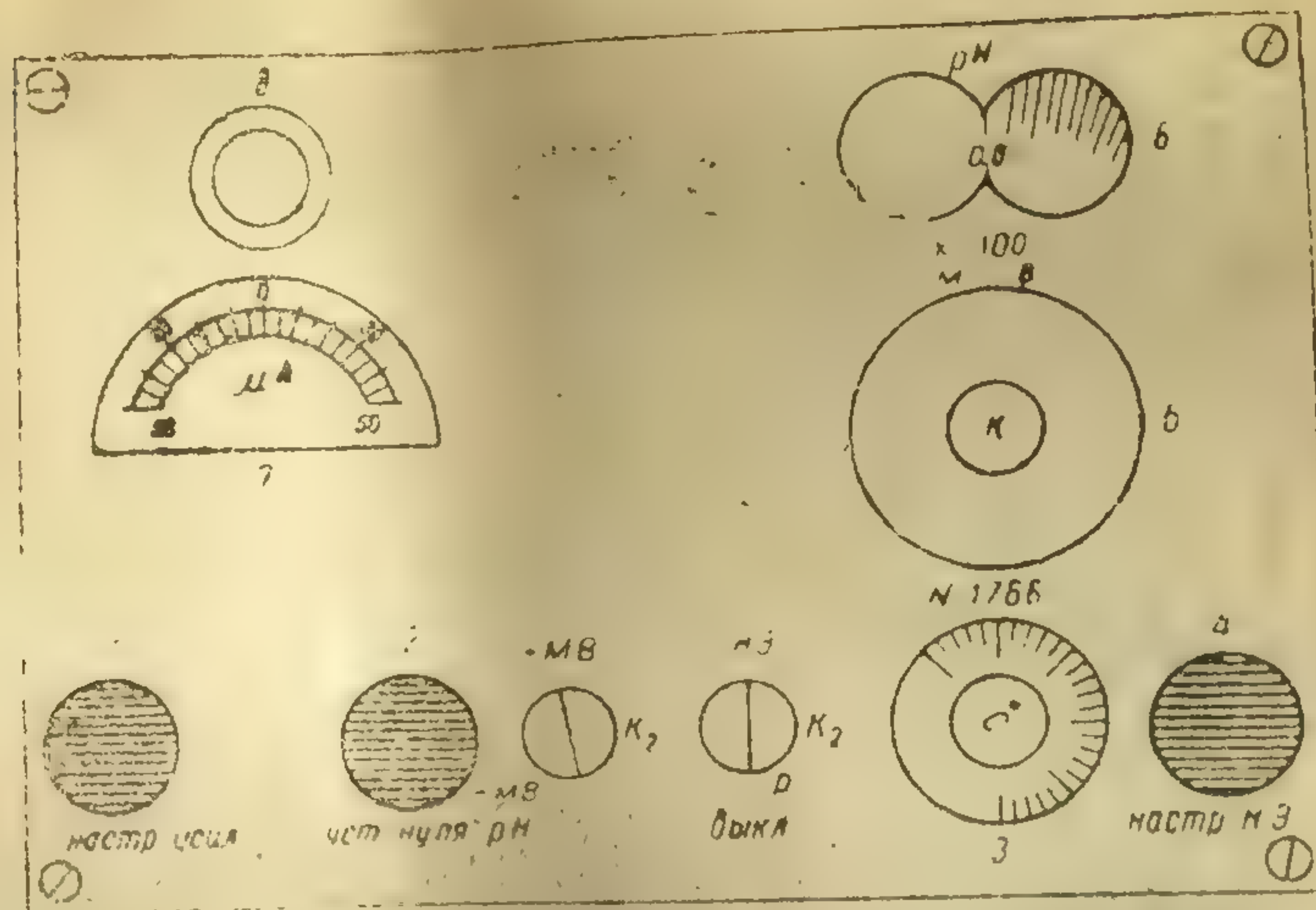
5. Рукоятку температурного компенсатора 3 ставят на величину температуры исследуемого раствора.

6. Под электроды подставляют большой стаканчик и струей дистиллированной воды из промывалки тщательно промывают оба электрода.

7. В малый стаканчик наливают буферный раствор с известным значением рН, близким к рН исследуемого раствора, и несколько раз погружают в него оба электрода (чтобы сполоснуть их измеряемым раствором), после чего этот раствор выливают.



А)



Б)

Р и с. 37. рН-метр ЛП-58. (А—общий вид, Б—схема)

1 — ручка реостата настройки усилителя; 2 — ручка установки нуля при калибровании шкалы реохорда по буферным растворам; 3 — ручка температурного компенсатора; 4 — ручка реостата настройки прибора по нормальному элементу; 5 — реохорд; 6 — шкала реохорда; 7 — гальванометр; 8 — индикаторная лампочка; 9 — гнездо для включения электродов; К — кнопка реохорда; К₁ — переключатель на милливольты и рН; К₂ — переключатель на рабочее положение и нормальный элемент (он же является выключателем гальванического элемента, питающего измерительную схему прибора)

8. Снова наполняют стаканчик тем же буферным раствором и при нажатии штифта держателя погружают электроды в раствор до дна стаканчика.

9. Вращением рукоятки реохорда 5 устанавливают на шкале рН буферного раствора (шкалу точно ставят на известную величину рН буферного раствора).

10. Нажав кнопку К реохорда, вращением ручки 2 стрелку гальванометра устанавливают точно на нуль.

11. Оба электрода поднимают вверх при нажатии штифта держателя.

12. Выливают из стаканчика буферный раствор и тщательно промывают его дистиллированной водой. Подставив под электроды стаканчик (большого размера), струей из промывалки хорошо промывают оба электрода.

III. Измерение рН исследуемых растворов

1. Наливают в стаканчик исследуемый раствор и несколько раз погружают в него оба электрода (для их споласкивания), после чего этот раствор выливают.

2. Наливают снова в стаканчик исследуемый раствор, ставят в гнездо штатива и опускают в него до дна оба электрода (при нажатии штифта держателя).

Нажав кнопку К реохорда 5, вращением рукоятки реохорда устанавливают стрелку гальванометра на нуль.

3. На шкале реохорда прочитывают значение рН исследуемого раствора.

Примечание. Время от времени необходимо проверять настройку прибора. Для этого ключ K_1 поставят на индекс «-мв», вращением ручки реостата 1 устанавливают стрелку гальванометра на нуль (если она сошла с нуля). После этого на несколько секунд замыкают ключ K_2 на индекс «НЭ» и вращением реостата 4 устанавливают стрелку гальванометра на нуль, если она смещена. После проверки ключ K_1 обязательно возвращают на индекс «рН».

IV. Приведение прибора в нерабочее состояние

1. Нажимают вниз выключатель «В» (на правой стороне прибора) к индексу «Выключено». При этом гаснет красная индикаторная лампочка.

2. Выключают вилку шнура из сети переменного тока.

3. Ключ K_2 ставят на индекс «Выключено», а ключ K_1 — в положение «—мв».

4. С помощью промывалки тщательно промывают дистиллированной водой стеклянный и каломельный электроды.

Если предполагается ежедневная работа по измерению рН, то стеклянный электрод погружают в маленькую пробирку с дистиллированной водой. Каломельный электрод оставляют в штативе на воздухе.

Растворы для калибровки прибора при измерении рН стеклянным электродом

А. Исходные растворы

1. 0,05 М раствор бифталата калия $C_6H_4(COOH)(COOK)$.
(10 г растворяют и доводят до метки в мерной колбе на 1 л).
2. 0,05 М раствор янтарной кислоты $HOOC-CH_2-CH_2-COOH$.
(5,9 г растворяют в 1 л).
3. 0,02 М раствор борной кислоты H_3BO_3 (12,37 г в 1 л).
4. 0,05 М раствор буры $Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$ (19,07 г в 1 л).
5. 0,1 н раствор соды Na_2CO_3 (10,60 г безводной соды в 1 л).
6. 0,1 н HCl (8,2 мл концентрированной соляной кислоты доводят до метки в мерной колбе на 1 л).

Б. Буферные растворы

Состав раствора

рН	
3,98	0,05 М раствор бифталата калия
5,00	158 мл раствора 2 + 92 мл раствора 4
7,09	235 мл раствора 3 + 15 мл раствора 4
9,24	0,05 М раствор буры
11,04	125 мл раствора 5 + 7,5 мл раствора 6 + 117,5 мл дистиллированной воды.

ЛАБОРАТОРНЫЙ рН-МЕТР ЛПУ-01

В настоящее время получил широкое распространение рН-метр ЛПУ-01, предназначенный для измерения рН растворов в лабораторных условиях. рН-метр ЛПУ-01 не требует источников постоянного тока для питания потенциометрической цепи, чем выгодно отличается от модели ЛП-58.

Питание прибора осуществляется от сети переменного тока 220 в или через повышающий трансформатор от сети 127 в.

Прибор ЛПУ-01 позволяет производить измерение рН в широких пределах от -2 до 14 рН. Шкала показывающего прибора отградуирована в единицах рН с ценой деления 0,05.

Для осуществления измерения в пределах -2 ÷ 14 рН имеется переключатель диапазонов. Если переключатель диапазонов находится в крайнем левом положении — 2—14, прибор показывает ориентировочное значение рН, которое читается по самой нижней шкале прибора с ценой деления 0,5 единицы рН. По этой шкале можно измерять с точностью 0,2 единицы рН. Если такая точность измерения недостаточна, производят измерение рН с переключением на узкие диапазоны. По верхней шкале можно измерять (путем переключения) в следующих узких диапазонах: -2 — 2 рН; 2—6 рН; 6—10 рН; 10—14 рН.

Крайнее левое деление верхней шкалы рН в зависимости от установленного диапазона может читаться, как — 2, 2, 6, 10 (единиц рН), крайнее правое деление — соответственно 2, 6, 10, 14. Промежуточные деления шкалы читаются как промежуточные значения рН соответствующих диапазонов измерения.

Электродная система рН-метра ЛПУ-01 состоит из стеклянного электрода и электрода сравнения, которые укреплены на металлическом штативе. Стеклянный электрод электродной ячейки ЛПУ-01 стандартной конструкции (стр. 95). Электрод сравнения хлорсеребряный проточной конструкции.

Хлорсеребряный электрод помещен на дне пластмассового бачка, укрепленного в верхней части электродного штатива. Бачок заполняется раствором насыщенного хлористого калия. От бачка вниз отходит резиновая трубка, продолжением которой служит пластмассовая трубка, завинчивающаяся снизу пробкой с прокладкой из микропористого эбонита. Залитый в бачок раствор насыщенного хлористого калия должен полностью (без воздушных пузырей) заполнить резиновую и пластмассовую трубки и через пористую прокладку медленно вытекать (около 20 мл в сутки) в стакан с измеряемым раствором. При этом осуществляется электролитический контакт электрода сравнения с измеряемым раствором, электрическая цепь рН-метра оказывается замкнутой и возможно измерение э. д. с. электродной ячейки.

При установке прибора особое внимание следует обратить на сборку датчика (штатив с электродной системой). Нужно очень тщательно проверить заполнение насыщенным раствором хлористого калия резиновой и пластмассовых трубок.

Настройка прибора производится по буферным растворам. При этом применяется раствор с таким значением рН, которое ближе подходит к диапазону рН измеряемых растворов. Обычно к прибору прилагается набор фиксаналов для приготовления буферных растворов с различными величинами рН. При их использовании можно воспользоваться прописями приготовления буферных растворов, приведенными на стр. 99.

В приборе ЛПУ-01 при удалении электродов из измеряемого раствора гальванометр не выключается из цепи измерения и стрелка гальванометра резко западает за пределы шкалы. Это допускается правилами эксплуатации прибора и не мешает его правильной работе.

ПЛАМЕННАЯ ФОТОМЕТРИЯ

Пламенная фотометрия представляет собой один из видов эмиссионного спектрального анализа, основанного на фотометрировании излучения исследуемого элемента, введенного в пламя газовой горелки. Принцип его следующий: анализируемый раствор в виде мелких брызг (аэрозоля) вводят посредством

специального распылителя, действующего под давлением сжатого воздуха или кислорода, в пламя горелки, работающей на каком-либо горючем газе (природном, пропане, ацетилене). Возникающее излучение выделяется интерференционными светофильтрами и, попадая на фотоэлемент, вызывает фототок, который измеряется гальванометром (рис. 38). При соблюдении определенных условий отсчеты по гальванометру пропорциональны концентрации определяемого элемента, а это значит, что по отклонению стрелки гальванометра при помощи калибровочной кривой можно рассчитать содержание исследуемого элемента во взятой для анализа пробе материала.

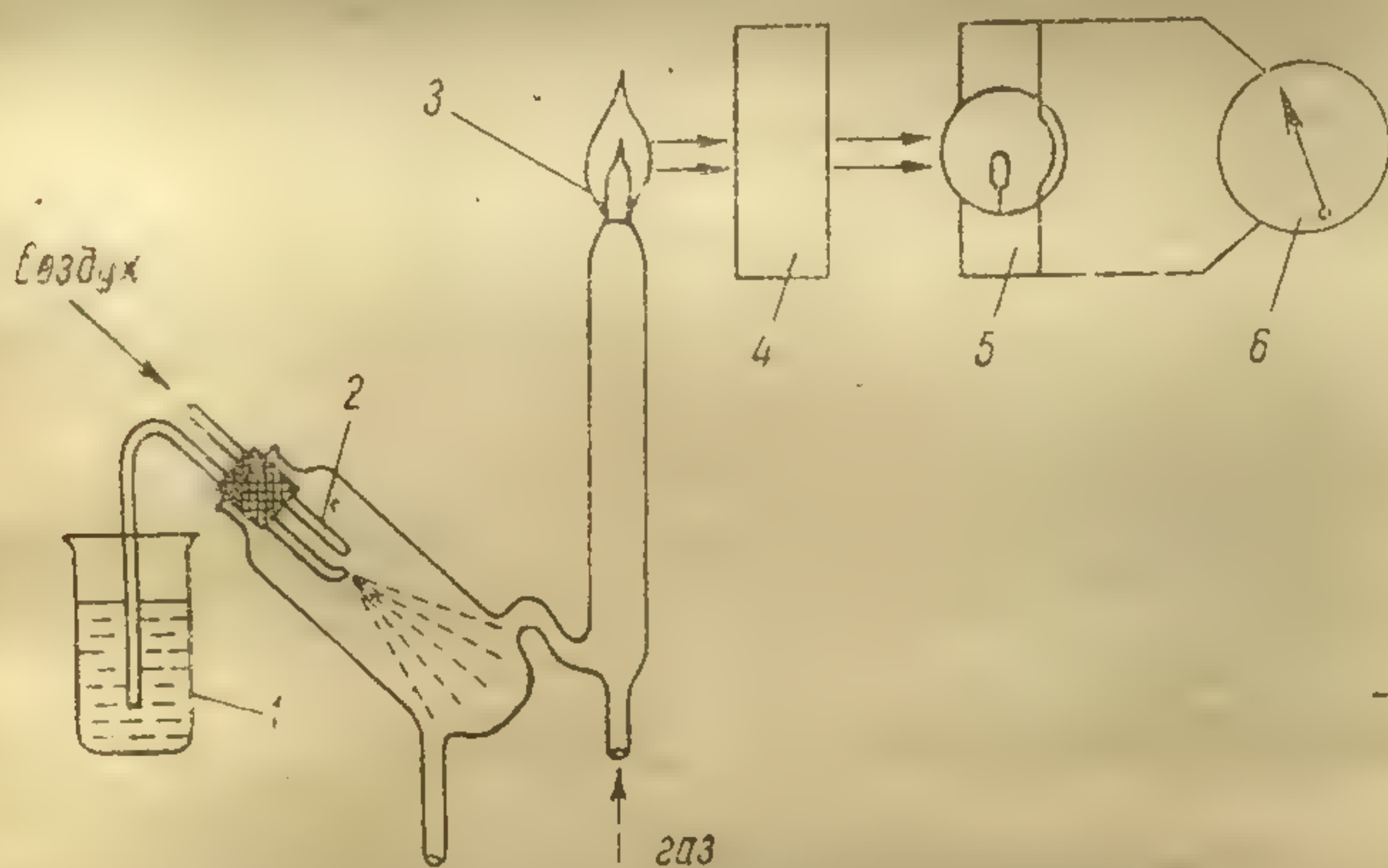


Рис. 38. Схема пламенного фотометра:

1 — стакан с исследуемым раствором; 2 — распылитель;
3 — пламя; 4 — интерференционный светофильтр; 5 — фото-
элемент; 6 — гальванометр

Благодаря большой скорости, простоте и достаточно высокой точности пламенно-фотометрический метод применяется для определения щелочных и щелочноземельных элементов: калия, натрия, лития, кальция и других. Им пользуются в геохимии и минералогии — для анализа вод и минералов, в агрохимии — для определения обменных оснований в почвах и для анализа удобрений и растительных материалов, в промышленности — для контроля производства при анализе сплавов металлов, стекол, цементов, огнеупоров, различных реактивов и т. д. Все более широкое применение находит пламенная фотометрия в медицине и биологии для исследования мочи, сыворотки крови, органов и тканей.

Излучение элемента в пламени. При анализе методом фотометрии пламени используют пламена горючих газов: водорода, светильного и природного газа, смесей пропана с бутаном и

ацетилена с воздухом или кислородом. Возможно также применение пламен, получаемых сжиганием паров горючих жидкостей: спирта, ацетона, бензина и др.

Различают два вида пламен: пламена газов, смешанных с воздухом или кислородом, и диффузионные, в которых горящий газ не содержит кислорода, а извлекает его из окружающего воздуха. Но диффузионное пламя имеет сильное свечение, вызываемое неполным сгоранием газа, и оно не применяется для пламенно-фотометрического анализа.

По мере увеличения количества воздуха в горючем газе свечение уменьшается и, наконец, совсем исчезает, получается прозрачное, несветящееся, голубоватое пламя, которое разделяется на два конуса: внутренний — довольно яркого сине-зеленого цвета, и внешний — голубой. Именно такое пламя используется в анализе.

Наиболее важным для анализа параметром пламени, от которого зависит пригодность для возбуждения спектров тех или иных элементов, является его температура:

Горючая смесь	Температура пламени, °
Светильный газ—воздух	1770
Пропан—воздух	1925
Ацетилен—воздух	2260
Светильный газ—кислород	2730
Пропан—кислород	2850
Ацетилен—кислород	3100

Наиболее легко возбуждаются спектры щелочных металлов: калия, натрия и др. Поэтому их можно определять и в низкотемпературном пламени. Щелочноземельные элементы (кальций, барий, стронций) дают достаточно сильное спектральное излучение в пламени с более высокой температурой. Что касается элементов других групп периодической системы, то в газовом пламени интенсивность их излучения очень слабая. Для их определения методом пламенной фотометрии требуется применение монохроматоров в сочетании с фотоумножителями.

В пламенно-фотометрическом анализе используются следующие спектральные линии:

для калия — 766,49 и 769,90 *м*μ,

для натрия — 588,99 и 589,59 *м*μ,

для кальция — широкая интенсивная полоса в области 620,00 *м*μ.

Выделение спектральных линий производится интерференционными светофильтрами, имеющими максимум пропускания соответственно указанным длинам волн. При этом ширина полосы пропускания равна примерно 10 *м*μ. Прозрачность свето-

фильтров составляет 20—35%. Для освещения параллельным световым пучком перед светофильтром помещается линза. Выделенное светофильтрами излучение натрия или кальция направляют на селеновый фотоэлемент, а излучение калия — на сернисто-серебряный. Возбуждаемые излучениями фототоки измеряются зеркальным гальванометром с чувствительностью по току 10^{-9} ампера.

Приемниками светового излучения могут быть и фотоэлементы с внешним фотоэффектом: сурьмяноцезиевые вакуумные и газополные. В связи с тем, что развиваемые ими под влиянием освещения фототоки очень малы, их необходимо увеличивать с помощью лампового усилителя. В этом случае вместо зеркального гальванометра может быть использован более грубый прибор — микроамперметр, который не нуждается в точной установке на капитальной стене помещения.

Для равномерного введения раствора в зону пламени применяются специальные распылители. Наиболее ответственной частью каждого распылителя является инжектор, в котором осуществляются засасывание жидкости и ее распыление. Инжектор должен обеспечить поступление достаточно больших количеств раствора и в то же время возможно более мелкое его распыление. При изготовлении распылителя важно соблюдать размеры отверстий трубок инжектора, который должен обеспечивать тонкое распыление раствора в виде тумана. Диаметр выходного отверстия трубки инжектора, подающей воздух, составляет 0,6—0,7 мм. Выходное отверстие вертикальной трубки, которая засасывает раствор, имеет диаметр 0,3 мм. При помощи гибкой резиновой трубки распылитель соединяется с горелкой.

Давление воздуха и газа, питающих пламя, должно быть постоянным. Это обеспечивает неизменность состава сгорающей смеси и скорость ее подачи. Горючий газ (пропан, природный газ, ацетилен) берут из баллона через редуктор или из газовой сети. Давление его регулируется водяным манометром.

Воздух для питания пламени и распыления раствора подается воздуходувкой или небольшим компрессором. Равномерная подача воздуха достигается тем, что он из компрессора поступает в пустой железный баллон, который является буферной емкостью, сглаживающей толчки. Далее для очистки от масла и пыли воздух проходит через стеклянную трубку длиной 20—25 см, диаметром 4—5 см, наполненную ватой, и поступает в распылитель. Давление контролируется металлическим манометром и регулируется с помощью крана, имеющего патрубок для выпуска избытка воздуха.

Аппаратура пламенной фотометрии. Наша промышленность выпускает фотоэлектрический пламенный фотометр типа ФПФ-58 и портативный пламенный фотометр ППФ.

Приемниками спектрального излучения в ФПФ-58 являются фотоэлементы с внешним фотоэффектом ЦГ-4. Он имеет ламповый усилитель постоянного тока.

В ППФ для приема спектрального излучения применены полупроводниковые вентильные фотоэлементы — селеновые и сернисто-серебряные, фототски которых непосредственно подаются на микроамперметр.

Фотоэлектрический пламенный фотометр ФПФ-58 (рис. 39 а, б) предназначен для количественного определения натрия, калия, кальция и лития. Он может быть применен в анализе и биологических материалов, интересующих ветеринарию и медицину. Прибор рассчитан на использование ацетилена. Однако после небольшой переделки газового микрокрана он может работать на бытовом газе — пропане или природном газе. В этом случае ниже чувствительность прибора, особенно по кальцию, но зато безопаснее работать, чем с ацетиленом.

Максимальная чувствительность прибора при использовании ацетиленового пламени по натрию и калию составляет 0,5 мг в 1 л раствора; по литию — 0,2 мг и по кальцию — 2 мг.

При использовании пропана чувствительность уменьшается в 8—10 раз, что обусловлено более низкой температурой пламени.

Необходимо отметить, что максимальная чувствительность определяется отклонением стрелки микроамперметра на 1 деление при введении в пламя указанных выше концентраций натрия, калия, кальция и лития.

Питание прибора производится от сети переменного тока напряжением в 220 в.

В приборе установлены 4 интерференционных светофильтра с максимальным пропусканием следующих длин волны в миллимикронах (мμ): № 1 — 590 (для натрия), № 2 — 620 (для кальция), № 3 — 670 (для лития) и № 4 — 768 (для калия).

Раствор распыляется воздушным распылителем. Струя воздуха, проходя под давлением через узкое сопло, создает на его выходе разрежение и засасывает раствор. Подача воздуха обеспечивается мембранным компрессором КВМ-8. На пути имеется буферный объем для сглаживания пульсаций воздуха, поступающего из компрессора. Величина давления меняется с помощью регулятора.

Горелка работает на ацетилене (или пропане), поступающем из баллона. Давление газа при выходе из баллона регулируется посредством специального редуктора. тонкая регулировка осуществляется газовым вентилем прибора при помощи водяного манометра. Газовая смесь зажигается от конденсаторного искрового устройства. В качестве приемника излучения применены два фотоэлемента с внешним фотоэффектом ЦГ-4, включенные навстречу один другому.

Световой поток от лампы горелки собирается линзой (рис. 39 а) и направляется перископическим пучком на подупротивную пластину. При этом подупротивная пластина освещается

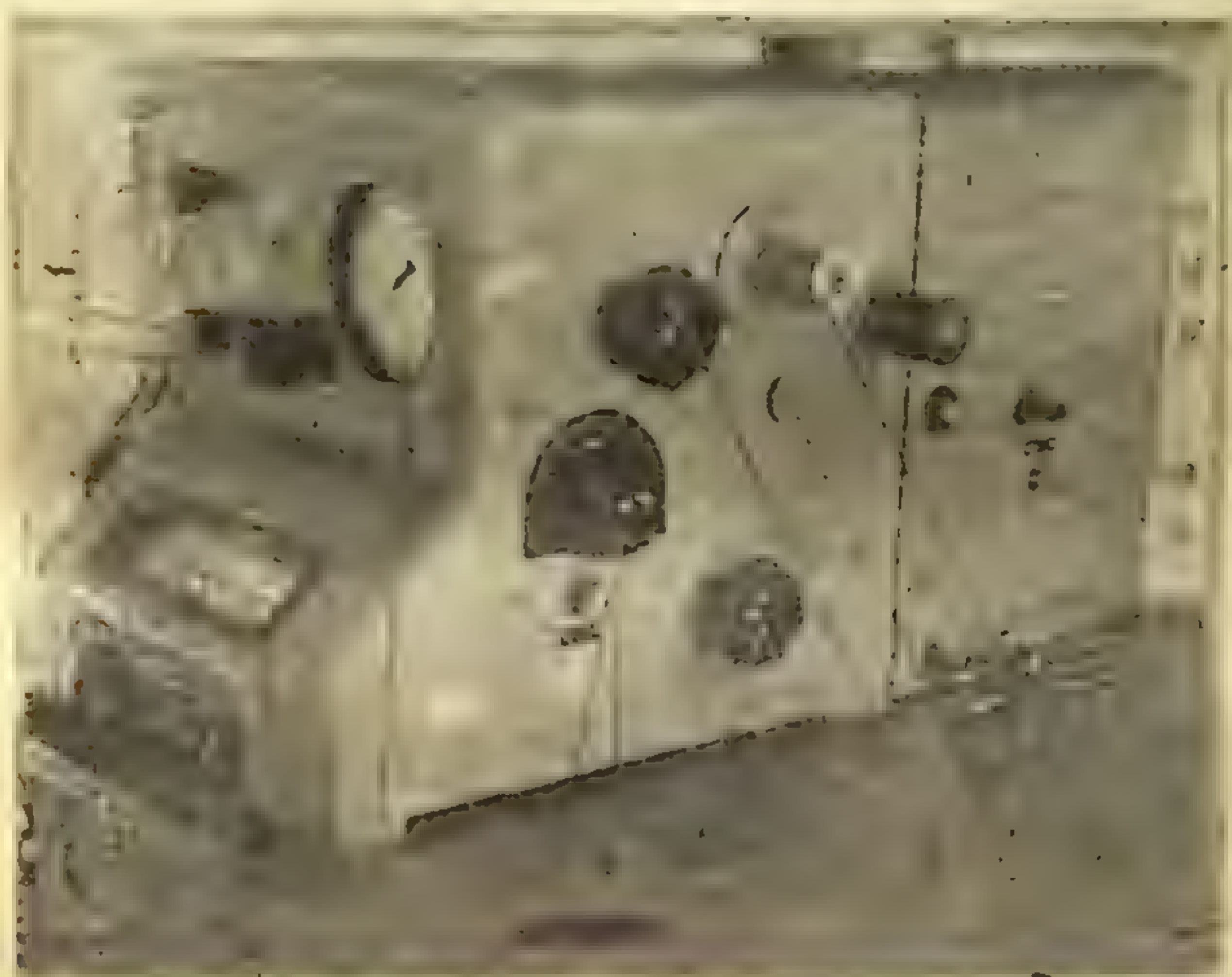


Рис. 39 а, б. Пламенный фотометр ФПФ-58

часть его (90%), пройдя интерференционный светофильтр, выделяющий пучок излучения, фокусируется на основной фотометрической пластине. Другая часть светового потока (10%) направляется по оптической пластинке через светофильтр на компенсационную

фотоэлемент. На пути обоих световых потоков установлены присовые диафрагмы со шкалами.

Фотоэлементы включены в плечи электронной мостовой схемы, в измерительную диагональ которой включен микроамперметр типа М-95 со световым отсчетом.

Наличие компенсационной схемы позволяет определять концентрацию одного из двух присутствующих в растворе элементов. В этом случае, чтобы исключить влияние мешающего излучения, производится настройка компенсационного плеча схемы по раствору, содержащему только «мешающий» элемент с введением соответствующего этому элементу светофильтра. Тогда результаты фотометрирования исследуемого элемента не будут зависеть от наличия в растворе «мешающего» элемента.

На наружные поверхности корпуса выведены все ручки управления и приборы для наблюдения во время работы.

На переднюю панель прибора выведены: водяной манометр 1 для наблюдения за давлением поступающего в прибор горючего газа, манометр 8 для наблюдения за давлением воздуха, поступающего в распылитель; вентиль 4 для регулировки давления воздуха; грубый 2 и точный 3 потенциометры для установки электрического нуля; микроамперметр 7 (М-95) (рис. 39 а и б).

На правой стенке корпуса прибора находятся: рукоятка диска светофильтров основного плеча 12, ручки переменной диафрагмы основного плеча 14, переключения чувствительности прибора 10, корректора «нуля» микроамперметра 9, переключения светофильтров компенсационного плеча 11, переменной диафрагмы компенсационного плеча 16, кнопка 17 зажигания газовой смеси; зеркало 15 для наблюдения за пламенем, выключатель 19 электропитания прибора, резьбовая пробка 13, закрывающая отверстие, через которое изменяют угол наклона светофильтров компенсационного плеча, провод 20 со штепсельной вилкой для включения прибора в сеть.

На левой стенке корпуса прибора выведены: штуцер 21 для подключения шланга от газового баллона, ручка 20 вентиля для регулировки давления газа, штуцер 22 для подключения шланга воздуха из буферной емкости, узел распылителя 25 со штуцером 24 для отвода конденсата, ручка 26 для перемещения комбинированной заслонки-диафрагмы, боковая стенка 23, при снятии которой открывается доступ внутрь прибора на случай замены фотоэлементов.

На задней стенке корпуса имеется откидная крышка, открывающая доступ к газовой горелке со смесителем, каплеотделителю и феррорезонансному стабилизатору и крышка, которая прикрывает рефлекторное зеркало.

На верхней плоскости корпуса выведен патрубок 27 от газовой горелки и помещена резьбовая пробка 28, закрывающая

отверстие, через которое в случае необходимости изменяют наклон светофильтров основного плеча.

На нижнем откидывающемся плато установлен микроамперметр М-95 с многопредельным шунтом типа Р₄, который расширяет основной предел измерения в отношении 1—5—10—50—100—500—1000 раз.

Ручка шунта выведена на правую боковую сторону прибора. Основными пределами измерения являются 1 и 10 микроампер, шкала микроамперметра имеет 100 делений. На передней панели, внизу справа расположена ручка переключения пределов измерения.

Узел распылителя, вынесенный на левую боковую стенку прибора, состоит из стеклянного баллона 1 (рис. 40) с металлической оправой, который пружинными защелками крепится к корпусу распылителя 7. С корпусом соединены штуцер 5 для подключения воздушного шланга, воздушное сопло 6, трубка 3 для забора исследуемого раствора, соединенная с изогнутой трубкой-капилляром 2, по которой раствор поступает на распыление. Штуцер 4 предназначен для отвода конденсата из распылителя. На

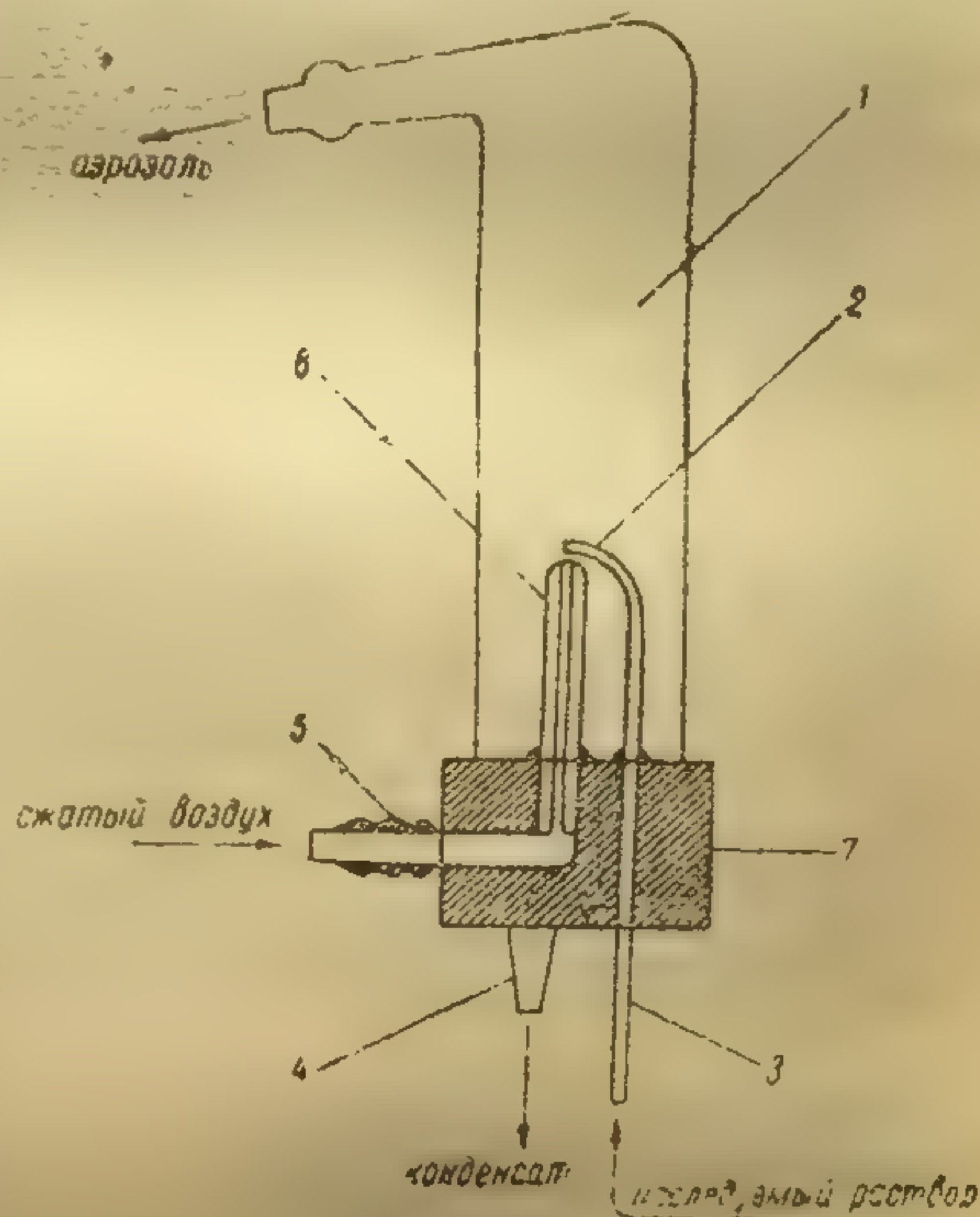


Рис. 40. Узел распылителя

верхнюю часть баллона надевается резиновый шланг, по которому аэрозоль поступает в смеситель горелки.

Для полного перекрытия светового пучка или изменения светового потока, поступающего от пламени горелки к фотоэлементам, служит комбинированная заслонка-диафрагма, переключение которой осуществляется ручкой 26. При введенной до отказа ручке световой пучок полностью перекрыт, при выдвижении ручки до отказа вводится круглое отверстие заслонки, пропускающее полный световой поток от горелки. В среднем фиксируемом положении ручки вводится прямоугольная диафрагма, срезающая часть светового потока.

Подготовка прибора к работе. Перед работой следует тщательно проверить состояние прибора, обратив особое внимание на газовые и воздушные коммуникации. Необходимо строго соблюдать технику безопасности при работах, связанных с исполь-

зованием горючих газов, находящихся под высоким давлением в баллонах.

Шланги должны быть надеты на штуцера плотно, чтобы не было утечки газа или воздуха. Негодные шланги необходимо сразу же заменить новыми. Зажимы на трубках для спуска конденсата из каплеотделителя и смесителя должны исключать потери газа и аэрозоля исследуемого раствора. Освобождать зажимы для спуска конденсата при зажженной горелке нельзя, так как пламя при этом может проникнуть внутрь горелки и вызвать ее разрушение. При обнаружении утечки газа или другой неисправности необходимо немедленно прекратить подачу газа в прибор, продуть всю систему воздухом и после этого приступить к устранению неисправностей.

Включение и подготовка прибора к измерениям. 1. Штепсельный переключатель напряжения микроамперметра, расположенный на передней панели внизу слева, должен быть поставлен в положение «220 в».

2. Штепсельную вилку включают в сеть и подают в прибор ток поворотом выключателя 19 в положение «включено».

3. Переключатель пределов микроамперметра устанавливают на 10 микроампер, а ручку 10 переключателя чувствительности на положение «бесконечность» (∞).

4. Ручкой 9 корректора нуля указатель шкалы микроамперметра устанавливают на нуль, после чего его арретируют (ручку внизу справа на передней панели ставят в положение «арретир»).

В нерабочем состоянии микроамперметр должен постоянно находиться в арретированном состоянии во избежание его порчи.

5. После прогрева электрической схемы прибора в течение 30—40 минут переключатель микроамперметра переводят в положение «наружный шунт», а переключатель чувствительности 10 — в положение «1» (максимальная чувствительность). При этом входное световое отверстие прибора перекрывается заслонкой выдвижением до отказа внутрь прибора ручки 25.

6. Рукояткой потенциометра 3 устанавливают «электрический нуль», т. е. указатель шкалы микроамперметра подводят к нулю. Если этим потенциометром не удастся установить микроамперметр на нуль, то пользуются потенциометром грубой настройки 2.

7. Конец резиновой трубки для отвода конденсата из распылителя опускают в сосуд с водой. Это положение трубки должно сохраняться до окончания работы на приборе.

8. Включают компрессор и вентилем 4, по манометру 8 устанавливают давление воздуха около 0,2 атм.

9. Перед подачей газа в прибор: а) проверяют работу искрового зажигания горелки: при нажатии на кнопку 17 над колпачком горелки должна проскакивать искра, которую можно на-

блюдать через боковое зеркало 15; б) открывают вентиль регулировки давления газа 20.

10. Для подачи газа (пропана) в прибор открывают вентили, установленные на баллоне и редукторе, и постепенно увеличивают подачу газа, регулируя его давление редуктором баллона и газовым вентилем 20 прибора по водяному манометру. Давление газа устанавливают в пределах 80—90 мм водяного столба.

11. Как только давление газа достигнет указанной величины (при давлении воздуха в 0,1 атм) нажимают на кнопку искрового зажигания. Сразу же вспыхивает пламя, которое наблюдают в зеркало 15.

12. Регулируя вентилем (рукоятками 4 и 20) давление газа и воздуха, добиваются, чтобы конусы пламени под горелкой имели голубой цвет, были четко очерчены и не слишком вытянуты вверх, а пламя над конусами должно быть бесцветным. В случае использования пропана его давление должно находиться в пределах 40—60 мм водяного столба, а давление воздуха в пределах 0,35—0,40 атм. Давление ацетилена должно быть в пределах 120—200 мм водяного столба, давление воздуха — 0,22—0,35 атм.

Когда установится стабильный режим горелки, записывают по показаниям манометров давление воздуха и газа с тем, чтобы строго придерживаться этих величин при построении калибровочной кривой и выполнении анализов.

Методика и техника выполнения анализов. Работа по определению концентраций исследуемых элементов начинается с построения градуировочной кривой для каждого элемента по эталонным растворам. Последние готовят из чистых растворов солей натрия, кальция, лития, калия разной концентрации.

Построение кривой начинают с распыления дистиллированной воды, и рукояткой потенциометра указатель микроамперметра устанавливают на нуль. При этом компенсационное плечо полностью перекрывают, а в основном плече должен быть установлен светофильтр, соответствующий элементу, по которому проводят градуировку. Затем берут эталонные растворы этого элемента с известной, равномерно возрастающей концентрацией и поочередно вводят их через распылитель в пламя фотометра.

Каждой концентрации раствора соответствует какое-то отклонение указателя микроамперметра за счет изменения фототоска.

Число эталонных растворов берут таким, чтобы получить достаточное число точек для построения кривой.

Наибольшая концентрация эталонного раствора должна быть не менее определяемых концентраций в исследуемых растворах.

Давление воздуха и ацетилена, а также степень раскрытия

диафрагмы, должны быть одинаковы при распылении всех эталонных растворов и дистиллированной воды.

Градуировочная кривая строится в координатах: отсчет — концентрация. На графике указываются показания прибора: раскрытие диафрагмы, положение рукоятки чувствительности прибора, давление воздуха и ацетилена и другие необходимые сведения.

При наличии такой кривой приступают к определению концентраций элемента в исследуемых растворах.

Снова распыляют дистиллированную воду и устанавливают нуль на микроамперметре. Затем берут растворы с исследуемым элементом и вводят их в пламя. По величине отсчета микроамперметра и по градуировочной кривой определяют концентрацию элемента. При этом должны быть точно выдержаны все показания прибора, записанные на градуировочном графике.

Если концентрация исследуемого раствора неизвестна, то на приборе устанавливают наименьшую чувствительность — ∞ , затем постоянно увеличивают ее до такого положения, когда можно снять показания микроамперметра.

При определении концентраций смешанных растворов, включающих одновременно натрий и кальций, применяют компенсационный метод измерения. Положим, что в этом растворе нужно определить концентрацию натрия. В основное плечо включают натрий-фильтр, а в компенсационное — кальций-фильтр.

В пламя горелки вводят чистый раствор кальция, концентрация которого должна приблизительно соответствовать концентрации кальция в исследуемом растворе.

Изменением диафрагмы компенсационного плеча устанавливают указатель микроамперметра на нуль. В это время диафрагма основного плеча должна быть такой же, как и при построении градуировочной кривой для натрия.

В результате такой установки микроамперметра фототок будет компенсирован по кальцию, и это положение указателя микроамперметра нужно считать за нуль отсчета.

В дальнейшем берут исследуемые растворы и продолжают работать обычным методом, пользуясь градуировочной кривой, построенной по эталонным растворам натрия.

Градуировочная кривая сохраняется при постоянных условиях работы долгое время, однако, ее все же периодически надо проверять. При замене деталей, в особенности распылителя и горелки, необходимо построение градуировочной кривой производить заново.

Приведение прибора в нерабочее состояние

1. Хорошо промывают распылитель до получения бесцветного пламени, и затем дают прибору некоторое время поработать, чтобы высушить баллон распылителя током сухого воздуха.

2. Отключают подачу газа, закрыв вентиль на газовом баллоне.

3. Быстро уменьшают давление воздуха до 0,1 атм вращением влево вентиля 4.

4. Выключают компрессор и затем прибор.

Некоторые указания по работе с пламенным фотометром.

Когда в приборе зажжена горелка, запрещается:

а) освобождать зажимы для спуска конденсата из смесителя горелки и каплеотделителя;

б) вынимать распылитель для осмотра или очистки;

в) перегибать или снимать шланги для подачи газа и воздуха;

г) отключать подачу воздуха;

д) вынимать трубку из сосуда с водой для спуска конденсата из распылителя;

е) производить любые работы по замене отдельных узлов или деталей.

При работе с прибором должны строго соблюдаться следующие указания:

1. При заполнении водой трубки водяного манометра воду наливают только до нулевой отметки.

2. Регулятор давления редуктора, присоединенного к баллону с газом, необходимо открывать плавно (без рывков), и не допускать выброса воды из водяного манометра. При подаче газа рывками вода из трубки манометра может попасть в вентиль 20 для регулировки давления газа и вывести его из строя.

3. Если в результате неосторожного обращения с прибором в вентиль регулировки давления газа попала вода, необходимо:

а) снять с вентиля шланг, идущий от водяного манометра, и удалить воду из вентиля и шланга;

б) продуть вентиль воздухом от компрессора, подключив воздушный шланг к штуцеру 21 для подачи газа в прибор, сняв со штуцера вентиля шланг, идущий к водяному манометру.

4. Вентиль регулировки давления газа необходимо прочищать, так как из газа и шлангов в вентиль могут попасть соринки и закупорить его мелкие отверстия.

5. Исследуемые растворы, вводимые в пламя горелки, должны быть профильтрованы. Наличие в растворах мути, осадков может вызвать засорение трубки распылителя и остановить выполнение анализов.

6. Необходимо тщательно мыть применяемую посуду, так как следы посторонних растворов могут быть причиной неверных показаний прибора.

ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА

Полярографический метод анализа предложен чешским ученым Я. Гейровским на основании наблюдений над явлениями, происходящими на капельном ртутном катоде. Название метода

ано с процессами поляризации, возникающими при прохождении электрического тока через растворы электролитов.

Полярография получила широкое распространение в различных областях аналитической химии и стала незаменимой при разнообразных исследованиях физико-химических процессов. Область ее применения в промышленном и сельскохозяйственном анализе и в различных биологических исследованиях расширяется с каждым годом. Основным преимуществом этого метода является возможность быстро и с достаточной степенью точности анализировать сложные смеси как неорганических, так и органических веществ без предварительного выделения определяемого компонента.

Полярографическим методом могут быть определены почти все неорганические катионы, некоторые анионы и многие органические соединения, которые восстанавливаются или окисляются на капельном ртутном или платиновом микроэлектроде. Чувствительность полярографии очень высокая: последние модели электронно-лучевых полярографов дают возможность количественно регистрировать концентрации определяемых элементов порядка одной миллионной доли процента. В связи с этим метод приобретает особенно большое значение в определении микроэлементов, т. е. ничтожных следов элементов, играющих важную роль в жизни растений и животных.

Полярографическим методом можно определять концентрацию одного вещества в присутствии другого в пределах от грамма до десятых долей миллиграмма в литре. Особыми приемами и применением новейшей аппаратуры чувствительность повышается до тысячных долей миллиграмма в литре. На одной полярографической кривой можно получить сразу несколько ступеней или волн, т. е. одновременно определять несколько веществ в исследуемой пробе.

Для определения концентрации веществ в растворе достаточно измерить величину предельного диффузионного тока, протекающего в цепи, и нет необходимости прибегать к проведению электрохимической реакции во всем объеме раствора, как это делается в других видах электроанализа. При полярографическом анализе, в отличие от обычных аналитических методов, не определяется количество продуктов реакции или количество затраченного реактива. Это ускоряет процесс, который продолжается 2—5 минут, а в отдельных случаях — несколько десятков секунд. Скорость выполнения анализов лимитируется только временем подготовки вещества к анализу, т. е. его растворением. Анализы могут проводиться в водных, неводных растворах и расплавах.

Для полярографических определений достаточно очень малых количеств растворов, порядка 0,1—1 мл, при этом в случае необходимости определения могут быть многократно повторены в том же растворе.

Точность полярографических определений находится в пределах 3—5% (относительных), т. е. является вполне удовлетворительной, принимая во внимание те преимущества и возможности, которыми обладает полярография.

Полярографический анализ основан на проведении электролиза исследуемого раствора с применением ртутного капельного непрерывно обновляющего свою поверхность микроэлектрода и последующей расшифровки полученных при этом вольт-амперных кривых, показывающих изменение силы тока, прохо-

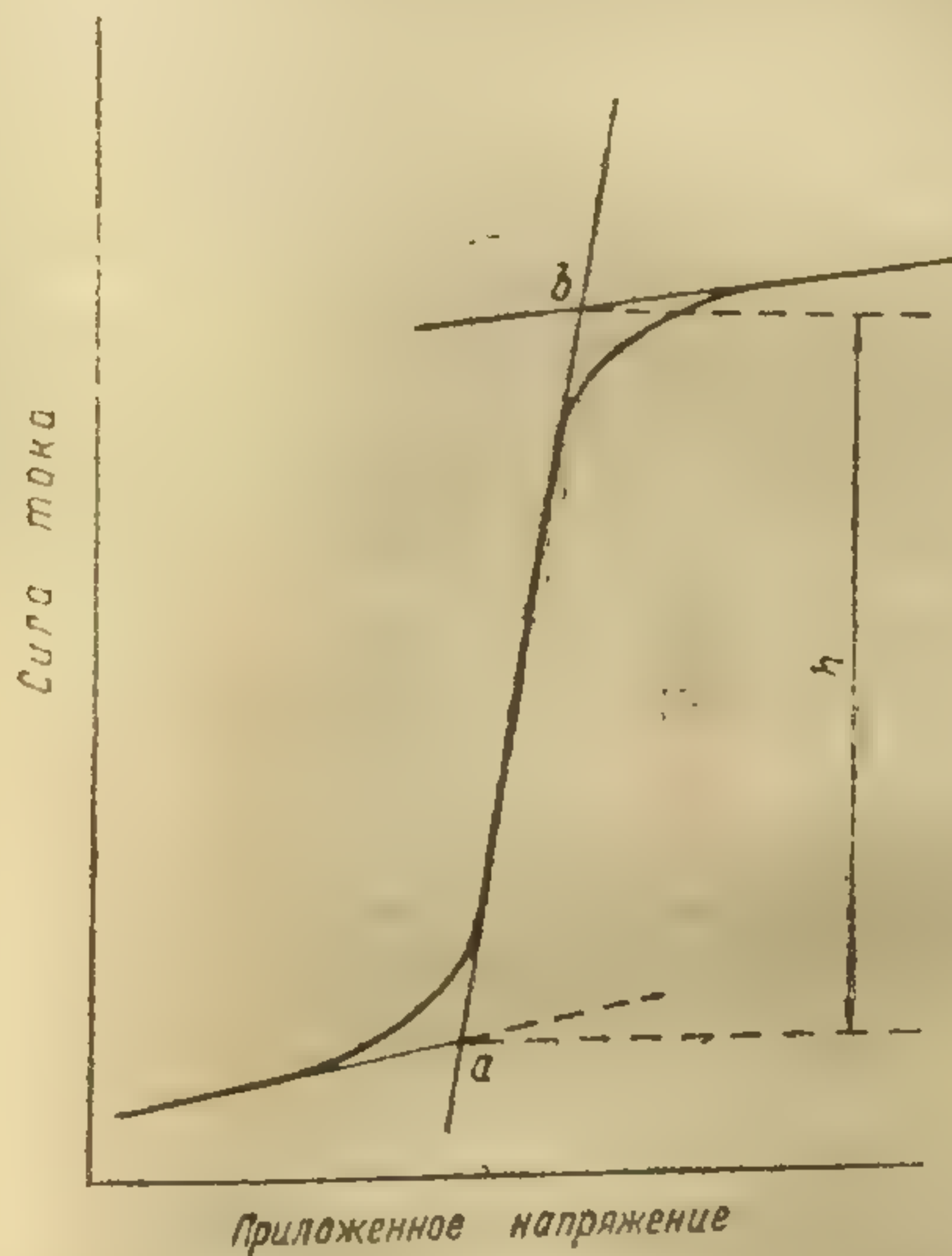


Рис 41. Полярографическая кривая

дящего через электролизер, с изменением напряжения. Такие диаграммы в форме координатной записи получили название полярограмм, а вольтамперные кривые — полярографических кривых (рис. 41).

Полярографические кривые имеют вид ступени, которая получила название полярографической волны. Каждая из этих волн характеризует восстановление того или иного иона. При соблюдении определенных условий высота волны пропорцио-

нальна содержанию определяемого иона в растворе, а потенциал средней точки волн $E_{1/2}$ характеризует природу иона. Таким образом, создается возможность одновременного качественного (по величине потенциала полуволны $E_{1/2}$) и количественного анализа растворов (по высоте волны h).

Типичная простейшая полярографическая установка схематически показана на рис. 42. На этом чертеже 1 — электролизер,

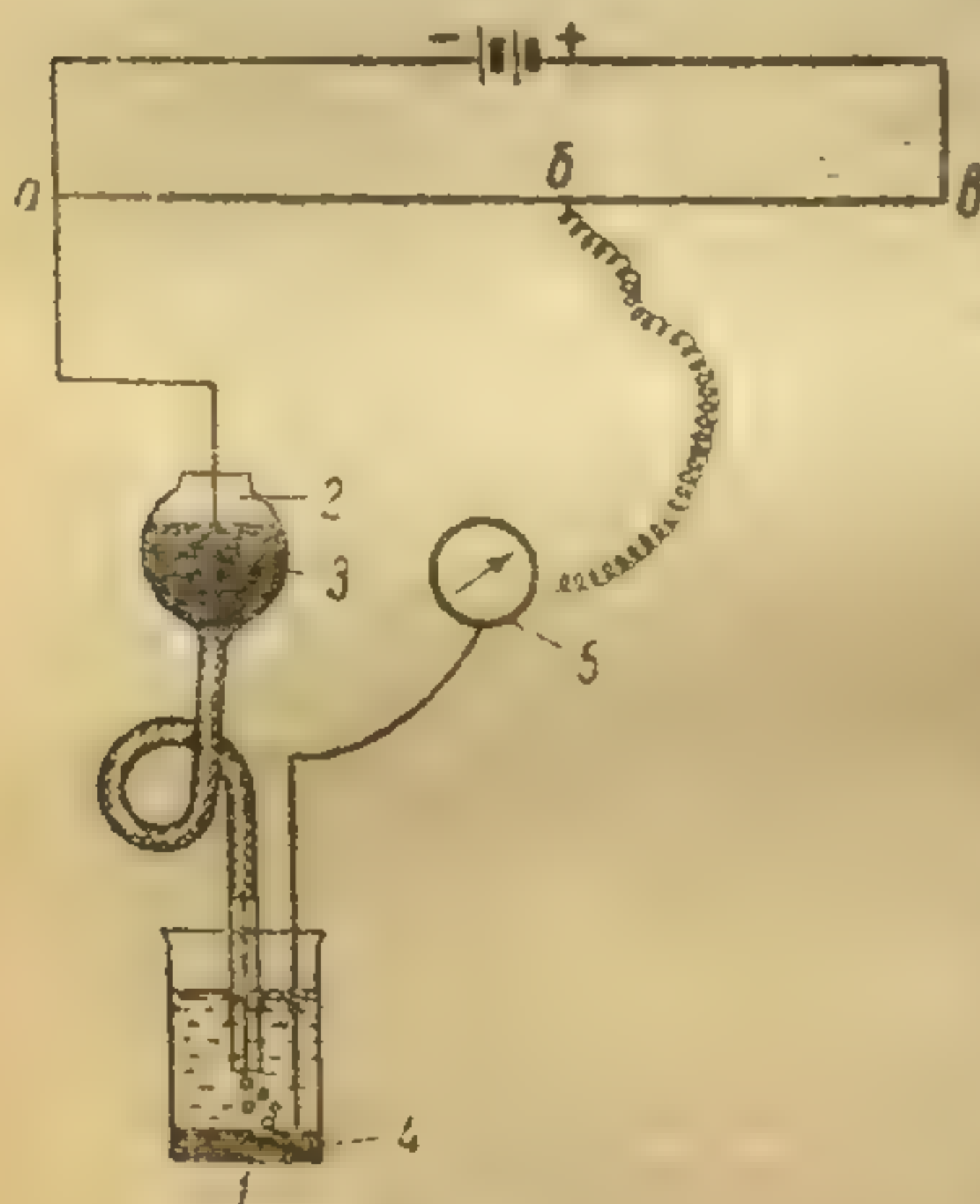


Рис. 42. Простейшая полярографическая установка

зер, содержащий исследуемый раствор. В данном случае 0,001M раствор $ZnSO_4$ в 0,1 M KCl , 2 — ртутный каплевидный электрод, 4 — неподвижный слой ртути на дне электролизера, являющийся вторым электродом. Эта ртуть посредством платинового контакта присоединена к контакту а мостика сопротивлений (реохорда). Контакт а соединен с плюсовым зажимом аккумулятора (на 4 в). Следовательно, слой ртути выполняет функцию анода. Капельный электрод представляет собой оттянутую капиллярную трубку с внутренним диаметром, приблизительно равным 0,03 мм. Капилляр с помощью толстостенной резиновой трубки соединен с резервуаром 3 с ртутью. Ртутные капельки вытекают из капилляра

через 2—4 сек. каждая. Они очень малы и в момент отрыва их диаметр не превышает 0,5 мм. Слой ртути с помощью платинового контакта, через зеркальный гальванометр 5 соединен с подвижным контактом б, при передвижении которого внешнее напряжение, приложенное к электролизеру, может изменяться от нуля до максимальной электродвижущей силы (ЭДС) аккумулятора. При этом, как видно из схемы, на капельный электрод подается отрицательное напряжение. Следовательно, каждая капля ртути, вытекающая из капилляра, является катодом и на ней происходит электровосстановление (или электроокисление) ионов, содержащихся в растворе.

Напряжение, подаваемое на электроды, изменяют, передвигая контакт б по проволоке реохорды, сопротивление которой должно быть невысоким, но однородным по всей ее длине. Это дает возможность по положению подвижного контакта непосредственно отсчитывать приложенное к электролизеру напряжение (в вольтах). Для удобства отсчетов напряжение на реохорде устанавливают на некоторое целое число вольт с помощью реостата и включенного в схему вольтметра.

Токи, проходящие через электролизер, обычно очень малы и редко превышают $1 \cdot 10^{-5}$ а. Для их регистрации необходимо пользоваться зеркальным гальванометром, снабженным шунтом, позволяющим изменять его чувствительность в довольно широких пределах.

Перед полярографированием определенный объем исследуемого раствора помещают в электролизер, на дне которого находится слой ртути, соединенный с плюсовым зажимом реохорда. К раствору добавляют так называемый «фон», представляющий собой раствор электролита, образующего волну при гораздо более отрицательном потенциале по сравнению с потенциалом восстановления определяемого иона. Волна фона находится в конце оси напряжения. Наличие «фона» необходимо для получения пропорциональности между высотой волны и концентрацией полярографируемого вещества. Концентрация «фона» должна в 50—100 раз превышать концентрацию исследуемого вещества.

Пропусканием через раствор инертного газа (азота или водорода) удаляют находящийся в нем атмосферный кислород, который легко восстанавливается на капельном ртутном электроде и дает две волны: первую — в начале координат, вторую — при потенциале — 0,90 в. Эти волны делают невозможным получение правильных конфигураций волн. На полярографических кривых, вблизи от нулевого напряжения, обычно возникают максимумы, сильно искажающие форму полярографических волн. Для их устранения к исследуемому раствору добавляют несколько капель раствора какого-нибудь поверхностноактивного вещества. Чаще всего для этой цели используют 0,5%-ный раствор желатины.

После проведения указанных операций в раствор опускают капельный ртутный катод. Между слоем ртути на дне электролизера и капельным катодом должно быть определенное расстояние, которое сохраняется и при последующих полярографированиях исследуемых растворов. Резервуар со ртутью присоединяют через гальванометр к подвижному контакту, который устанавливают на нулевое деление реохорда.

Процесс полярографирования состоит в том, что после включения аккумулятора посредством ключа подвижной контакт постепенно передвигают на определенное число делений реохорда вправо от его контакта a . Для каждого положения контакта по шкале реохорда отсчитывают поданное к электролизеру напряжение (в вольтах) и затем на шкале зеркального гальванометра отмечают силу тока в микроамперах (или просто в делениях шкалы), отвечающую соответствующему положению подвижного контакта. На основе полученных данных строят график, откладывая на оси ординат силу тока в микроамперах или в делениях шкалы гальванометра, а на оси абсцисс — напряжение в вольтах.

При прохождении электрического тока через раствор изменя-

ются электрохимические свойства поверхности электродов и состав раствора в прилегающем к электродам слое. При этом происходит поляризация электродов, величина которой зависит от плотности распределения электрических зарядов на них, а следовательно, от их размеров.

На большом (макро) электроде плотность тока будет мала и его потенциал не изменится, между тем как на микроэлектроде в связи с высокой плотностью тока происходит резкое изменение величины потенциала даже при ничтожном изменении плотности тока. Таким образом, практически будет поляризоваться только микроэлектрод. Поляризация электрода обусловлена изменением концентрации определяемого иона в слое раствора, прилегающем к микроэлектроду. Такая поляризация электродов называется концентрационной поляризацией.

Диффузионный ток. При полярографировании постепенно увеличивают электрическое напряжение, подаваемое на электролизер. При недостаточной величине напряжения ток практически не идет через раствор, т. е. электролиза нет. При достижении определенного напряжения, когда потенциал катода сравняется с потенциалом восстановления данного вещества (иона), начинается резкое возрастание силы тока даже при очень малом увеличении напряжения. Получается скачок силы тока. Но по мере дальнейшего увеличения напряжения величина силы тока перестает изменяться, становится постоянной. Если результаты электролиза изобразить графически, откладывая на оси абсцисс значения напряжения V , а на ординате соответствующие значения силы тока, то получится кривая, имеющая вид ступени или волны. Оказывается, что при соблюдении определенных условий высота этой ступени h пропорциональна концентрации определяемого вещества. Возникновение ступени на полярографической кривой обусловлено следующим. Каждый ион восстанавливается при определенной величине потенциала на катоде, равной электродному потенциалу данного иона. Как только на катоде достигнут такой потенциал, начинается восстановление ионов, находящихся в приэлектродном слое. Это сопровождается потреблением большого количества электронов, в связи с чем наблюдается скачок силы тока. Но вот наступает момент, когда ионы в приэлектродном слое исчерпаны, все они восстановились до металла, образуя амальгаму с каплями ртути. Во всем же объеме раствора концентрация ионов осталась прежней. И вот начинается притекание ионов к катоду за счет диффузии. Но так как при постоянной температуре скорость диффузии тоже постоянна, то в единицу времени к катоду поступает одно и то же количество ионов. Следовательно, сколько поступит ионов в единицу времени, столько же и восстановится. Поэтому увеличение внешнего напряжения (в известных пределах) не сопровождается возрастанием тока, его величина остается постоянной. Произошел скачок, затем остановка, предел возрастания тока. В свя-

зи с тем, что величина предельного тока связана с диффузией ионов к электроду, такой ток получил название предельного диффузионного тока. Предельный диффузионный ток пропорционален концентрации, поскольку скорость диффузии зависит от концентрации.

Миграционный ток. Во время электролиза ионы передвигаются к поверхности электрода не только вследствие диффузии, но и под воздействием электрического поля, создаваемого зарядами электродов. Такое движение называется миграцией ионов. Поэтому предельный ток представляет сумму диффузионного и миграционного тока. Но только диффузионный ток характеризует концентрацию определяемого вещества. Если же учитывать и миграционный ток, то это приведет к большим ошибкам в определении концентрации раствора. Значит его необходимо устранить. Достигается это прибавлением к исследуемому раствору «фона», электролита, который не вступает во взаимодействие с раствором и дает волну при более отрицательном потенциале восстановления по сравнению с определяемым ионом, т. е. его волна находится после волны данного иона. Концентрация «фона» должна превосходить концентрацию определяемого иона не менее чем в 100 раз. Тогда электрическое поле будет действовать на определяемые ионы в сто раз меньше, чем на ионы «фона», в связи с чем миграционный ток полностью исчезает, остается только диффузионный ток. Практически ток будет переноситься только ионами «фона», а определяемые ионы будут достигать электрода за счет диффузии.

В растворах органических соединений миграционный ток не возникает, так как в растворе вещество будет в виде нейтральных молекул. В этом случае также необходимо прибавление фона для повышения электропроводности и уменьшения сопротивления раствора.

Остаточный ток. Это чрезвычайно малый ток, протекающий через раствор до начала восстановления определяемых ионов, и обусловленный, главным образом, восстановлением различных примесей в растворе. Чтобы исключить влияние остаточного тока на полярографическую волну, при ее измерении вводят поправку путем вычитания из общей высоты волны.

Уравнение Ильковича. Зависимость предельного диффузионного тока от концентрации определяемого иона выражается уравнением Ильковича:

$$I_a = 605 n C D^{1/2} t^{1/2},$$

где I_a — сила диффузионного тока в микроамперах;

n — число электронов, принимающих участие в электровосстановлении (или электроокислении) определяемого иона;

C — концентрация определяемого вещества в миллимолях в 1 л;

D — коэффициент диффузии ионов, $\text{см}^2/\text{сек}$;

m — количество ртути, вытекающей из капилляра за 1 секунду, мг;

t — период капания ртути из капилляра в секундах.

В стандартных условиях проведения анализов величины m , t и D обычно постоянны. Их можно определить экспериментально и затем вычислить концентрацию C по уравнению Ильковича.

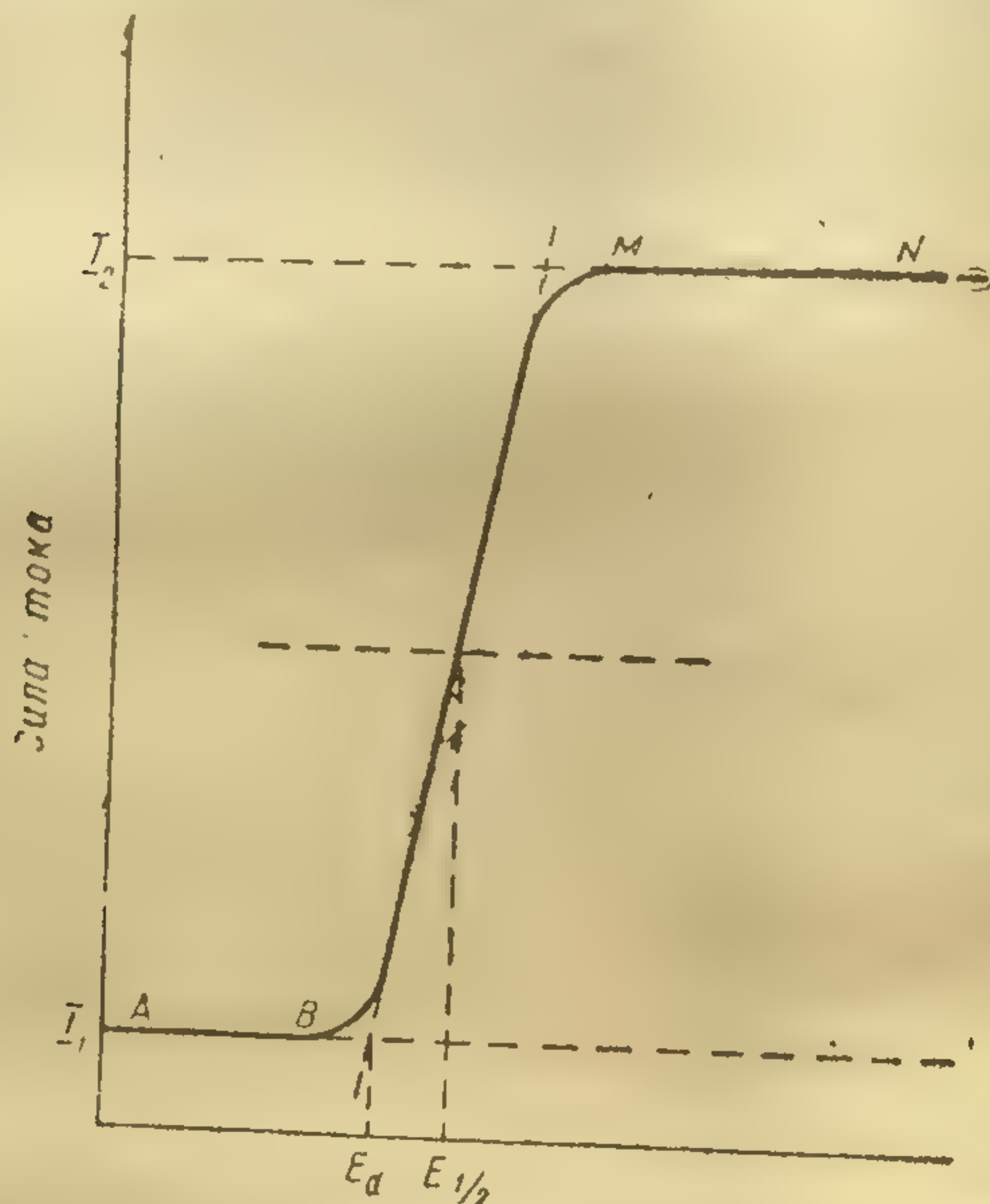


Рис. 43. Потенциал полуволны

Однако ввиду трудностей учета многих факторов, особенно определения коэффициента диффузии ионов, влияющих на величину диффузионного тока, на практике пользуются не расчетным, а сравнительным методом определения, основанным на применении стандартных растворов с известной концентрацией определяемых ионов.

Потенциал полуволны $E_{1/2}$. Потенциал восстановления является определенной величиной для каждого вещества, способного восстанавливаться (или окисляться) на электроде. Но потенциал восстановления зависит от концентрации вещества, от характеристики применяемого капилляра, т. е. от веса капли ртути и периода ее падения. Правильное определение положения волны важно для качественного анализа. Необходимо точно уста-

новить, к какому элементу данная волна относится. Поэтому необходимо так определить величину потенциала восстановления, чтобы она не зависела от указанных выше факторов. Такой величиной является потенциал, отвечающий середине полярографической волны, так называемый «потенциал полуволны $E_{1/2}$ » (рис. 43), который не зависит от концентрации раствора и характеристики капилляра. Эти факторы влияют на положение начала волны, но не влияют на положение средней точки ее при условии, что концентрация фона и температура являются постоянными.

Если в растворе имеется несколько веществ, дающих полярографические волны, то на полярографической кривой будет несколько ступеней при условии, что потенциалы полуволн не слишком близки между собой.

Поскольку потенциал большого ртутного анода зависит от плотности тока, то при более точных работах определяют не разность потенциалов между капельным ртутным электродом и ртутным анодом, а потенциал капельного электрода по сравнению с насыщенным каломельным электродом.

Потенциалы полуволн по отношению к насыщенному каломельному электроду приводятся в соответствующих таблицах. Величина потенциала является постоянной только для данного иона, если не меняется фон. При переходе к другому фону — величина потенциала полуволны становится другой.

При анализе раствора неизвестного состава экспериментально определяют соответствующие потенциалы полуволн и сопоставляют их с табличными данными (или с данными, найденными при предварительной калибровке по известным растворам).

Максимум полярографических кривых. Полярографические кривые не всегда имеют правильную конфигурацию, как показано на рис. 44. Их форма часто искажается так называемыми максимумами. Это означает, что сила тока быстро увеличивается и вместо того, чтобы постепенно приближаться к своему предельному значению, сильно возрастает, превышает это предельное значение и затем более или менее круто падает до величины нормального диффузионного тока. Согласно теории А. Н. Фрумкина это происходит по следующей причине. Капля ртути поляризуется (т. е. приобретает заряд) не сразу по всей поверхности. В связи с этим меняется поверхностное натяжение ртути, которое зависит от заряда ее поверхности. Это приводит к тому, что поверхность капли движется, «волнуется» и начинает размещивать раствор, прилегающий к капле. За счет этого происходит дополнительный приток восстанавливающих ионов к капле ртути. Резко возрастает расход электронов, получается максимум силы тока. Но вот наступает момент, когда капля полностью поляризовалась, поверхность перестала двигаться, дополнительного притока ионов нет и ток принимает свое нормальное значение, зависящее от концентрации определяемых

нось в растворе. Возникновение максимумов и их высота зависят от ряда условий, прямо не связанных с концентрацией раствора. Максимумы мешают полярографическим измерениям. Для их устранения к исследуемому раствору добавляют небольшие количества поверхностноактивных веществ, таких как желатина, столярный клей, метиловый красный и другие, которые, адсорбируясь на поверхности ртути, прекращают ее движение во время поляризации капли.

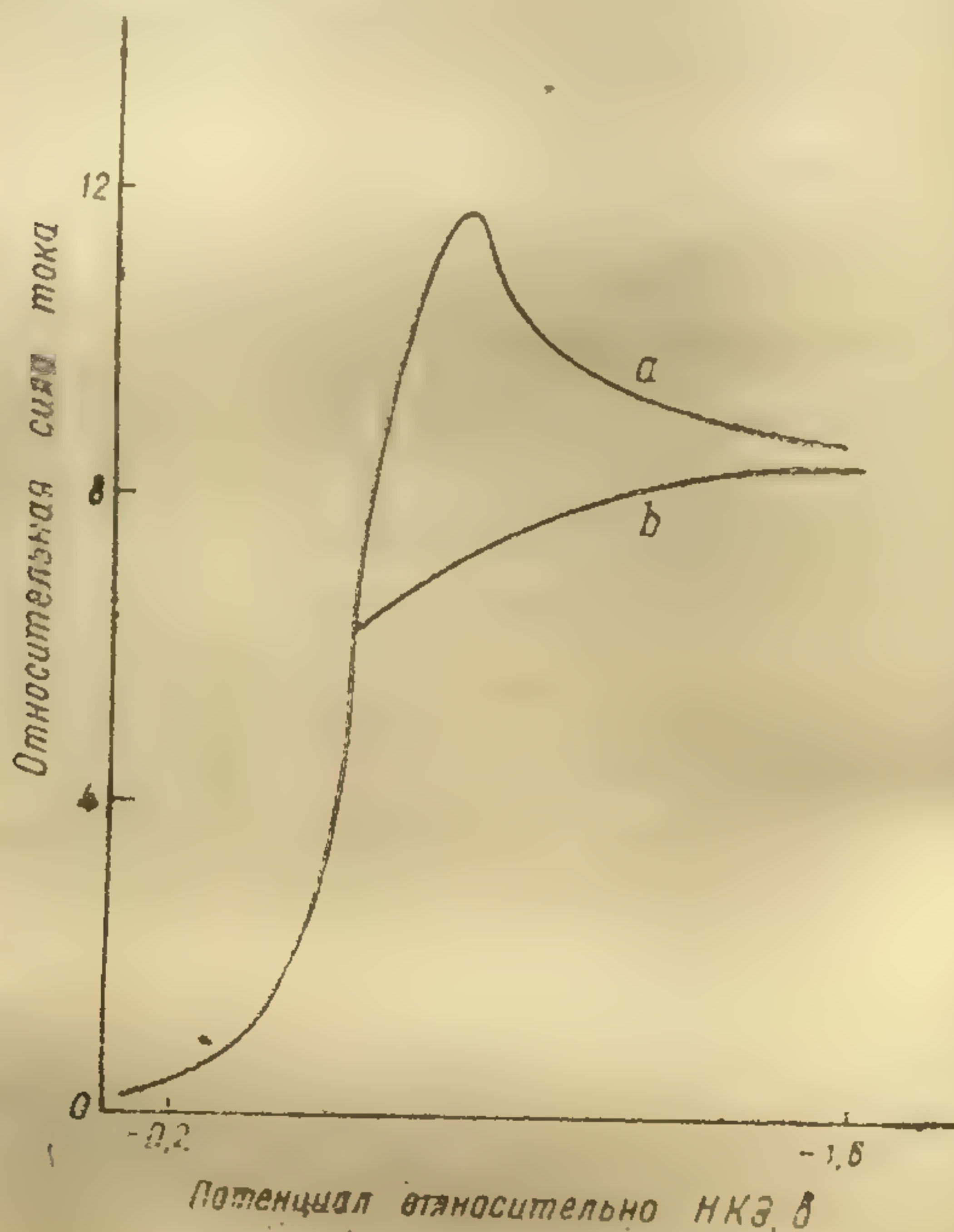


Рис. 44. Максимум полярографической кривой

Удаление кислорода из исследуемых растворов. На капельном ртутном электроде легко восстанавливается присутствующий в исследуемых растворах атмосферный молекулярный кислород, образуя две волны. Первая волна начинается при нулевом значении напряжения, т. е. сразу же при подаче напряжения на электролизер, вторая волна — при 0,9 в. Эти волны искажают результаты анализа. Поэтому перед проведением полярографирования из растворов нужно удалить кислород. С этой целью через растворы пропускают инертный газ (азот,

водород, в некоторых случаях — углекислый газ). Во время электролиза подача газа должна быть прекращена. Для удаления растворенного воздуха из 10—15 мл раствора достаточно пропускания инертного газа в течение 20 минут.

При пропускании азота обычно пользуются баллонами, наполненными азотом под большим давлением, которое снижают при помощи редуктора перед подачей газа в электролизер. Водород получается электролитически с помощью специального электролизера, в котором никелевые электроды опущены в 30%-ный раствор химически чистой щелочи (NaOH или KOH). Для очистки водорода от незначительных примесей кислорода его пропускают через промывную склянку со щелочным раствором пирогаллола и затем через склянку с дистиллированной водой.

Гейровский считает, что особенно удобен для удаления воздуха из раствора углекислый газ. Вследствие того, что углекислый газ тяжелее воздуха, его можно пропускать через раствор, находящийся в открытом сосуде. Удалять воздух углекислым газом можно только из кислых растворов, так как щелочные растворы реагируют с ним.

Из нейтральных и щелочных растворов кислород можно удалить, прибавляя к ним небольшое количество твердого сульфита натрия (примерно 0,5 г на 20 мл) или несколько миллилитров свежеприготовленного насыщенного раствора. В условиях нейтральной и щелочной реакции сульфит-ионы на капельном ртутном электроде не восстанавливаются. Связывание кислорода протекает в течение 3—5 минут. Помимо сульфита натрия, в некоторых случаях, для этой цели применяют и другие восстановители: метол, гидроксиламин и аскорбиновую кислоту.

Приборы для проведения полярографического анализа и техника полярографических измерений

Капельный ртутный электрод состоит из стеклянного капилляра, через который под давлением столба ртути медленно вытекает ртуть. На конце капилляра образуются капли ртути, которые через равные промежутки времени (несколько секунд) отрываются и падают на дно сосуда. Висящая растущая капля до момента ее отрыва служит электродом. В качестве анода применяется ртутный электрод большой поверхности, который представляет собой слой ртути, налитый на дно сосуда. Часто анодом служит внешний электрод сравнения, присоединенный к электролитическому сосуду посредством солевого мостика.

На капельном ртутном электроде могут происходить не только процессы восстановления, но и процессы окисления. В последнем случае он служит анодом, а неподвижный слой ртути — катодом.

От правильного изготовления капельного ртутного электрода в значительной степени зависит воспроизводимость поляр-

графических кривых. В связи с этим надлежащий выбор капилляра и проверка режима его работы имеет решающее значение для получения данных, которые характеризуют содержание определяемого вещества в исследуемом объекте.

Капельный ртутный электрод (рис. 45) представляет собой стеклянный капилляр 1, соединенный при помощи толстостенной резиновой трубки 2 с резервуаром для ртути 3. Резервуар имеет грушевидную форму, емкость его около 100 мл ртути.

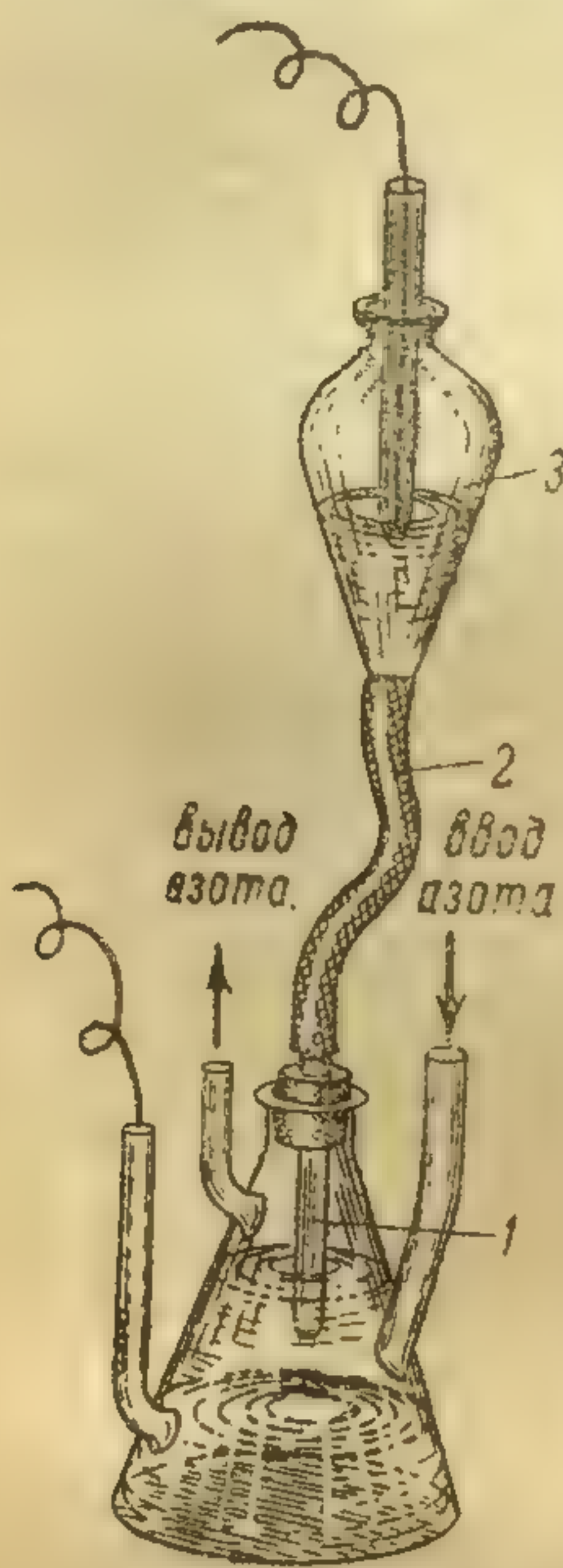


Рис. 45. Капельный ртутный электрод

Для осуществления контакта с катодом через отверстие в пробке в резервуар опущена тонкая стеклянная трубка с впаянной на конце платиновой проволочкой. Примерно на одну треть длины в трубку налита ртуть, в которую опущен зачищенный до блеска конец обыкновенного звонкового провода, присоединенного к минусовому контакту полярографа.

Капилляр для капельного электрода изготовляют из толстостенной капиллярной трубки с внутренним диаметром 0,5—1 мм и внешним диаметром 4—5 мм. Трубку длиной приблизительно в 200 мм нагревают посередине на паяльной горелке и вытягивают два капилляра так, чтобы каждый из них имел внутренний диаметр 0,03—0,05 мм. Конец капилляра должен иметь одинаковый внутренний диаметр (0,03—0,05 мм) на протяжении 30—40 мм, причем он не должен быть слишком тонким во избежание поломки.

Ртутный капельный электрод монтируют на металлическом штативе с высокой штангой (700—750 мм) следующим образом. Средством лапки на штанге закрепляют кольцо, на которое одевается резиновая трубка, для предохранения стеклянного резервуара с ртутью от повреждений в случае толчков о металлическое кольцо. Для этой цели в трубке делается скальпелем или бритвой прорезь по длине и затем она одевается на кольцо. На нижний отросток резервуара одевают один конец подготовленной толстостенной резиновой трубки и для прочности обвязывают крепкой ниткой. В другой конец трубки вставляют капиллярный электрод. В кольцо штатива устанавливают ртутный резервуар, закрепляют на штативе. Затем на капилляр оде-

вают резиновую пробку и оставляют ее на расстоянии примерно 10—15 мм от резиновой трубки. Пробка служит для закрепления капилляра на необходимом расстоянии посредством лапки, закрепленной на штанге штатива.

В резервуар, приблизительно на три четверти объема, наливают очищенную ртуть. Резервуар поднимают и закрепляют на штанге и, слегка постукивая пальцем, добиваются заполнения резиновой трубки и вытеснения находящегося там воздуха с тем, чтобы ртуть заполнила капилляр.

Для полярографических определений необходима постоянная скорость падения капель ртути из капилляра. Чтобы определить ее, резервуар с ртутью поднимают, капилляр опускают в стакан с водой или 0,1 н раствором KCl, дают ртути капать 10—20 мин. и отсчитывают по секундомеру время, в течение которого вытекает 10 капель. Период падения капель должен быть от 1 до 3 сек.

Скорость вытекания ртути регулируют поднятием или опусканием резервуара. Если капли падают очень медленно или совсем не вытекают, это означает, что очень узок капилляр. Тогда его надрезают острым краем напильника, отламывают небольшой кончик, снова опускают капилляр в воду и определяют период падения капель ртути. Эту операцию повторяют до тех пор, пока не будет достигнут необходимый период падения капель. Срез должен быть гладким, без зазубрин, а плоскость — находиться под прямым углом к оси капилляра.

Обращение с капилляром требует осторожности и аккуратности. Если в него попадает вода или исследуемый раствор, то в большинстве случаев он становится непригодным для работы. Поэтому никогда нельзя опускать ртутный резервуар, если капилляр находится в растворе, и даже, если он удален из раствора, но не промыт и не высушен. Если в капилляр попал раствор, то иногда помогает погружение его в концентрированную азотную кислоту, не прекращая истечения ртути. После этого капилляр промывают дистиллированной водой.

Перед началом работы поднимают резервуар с ртутью на определенную высоту, которой придерживаются при выполнении определений, и дают капать ртути в течение 5—10 мин. После окончания работы капилляр тщательно промывают дистиллированной водой (не опуская ртутного резервуара) и обсушивают его поверхность и торцовую часть кусочками фильтровальной бумаги. После этого опускают ртутный резервуар. Капилляр поворачивают в лапке штатива концом вверх и закрывают маленьким стеклянным колпачком для предохранения от пыли. Такой способ хранения капилляра, принятый в нашей лаборатории, обеспечивает длительный срок его эксплуатации без каких-либо нарушений режима работы.

Электролизеры бывают двух типов: с внутренним и с внешним электродом сравнения.

Простейшей формой первого типа является химический стакан (рис. 46а) или конический сосуд (рис. 46б) емкостью 5—10 мл с налитой на дно ртутью, служащей электродом сравнения, и платиновым контактом, впаянным в стеклянную трубку, опущенную в ртуть. Слой ртути должен быть достаточно толстым, чтобы платиновый контакт находился под ее поверхностью. Если даже какая-то малая часть платинового контакта не будет покрыта ртутью, то это вызовет изменение формы полярграфических кривых и исказит результаты анализа. Кончик капилляра капельного электрода должен быть погружен в раствор примерно на 5 мм и настолько же отстоять от слоя ртути.

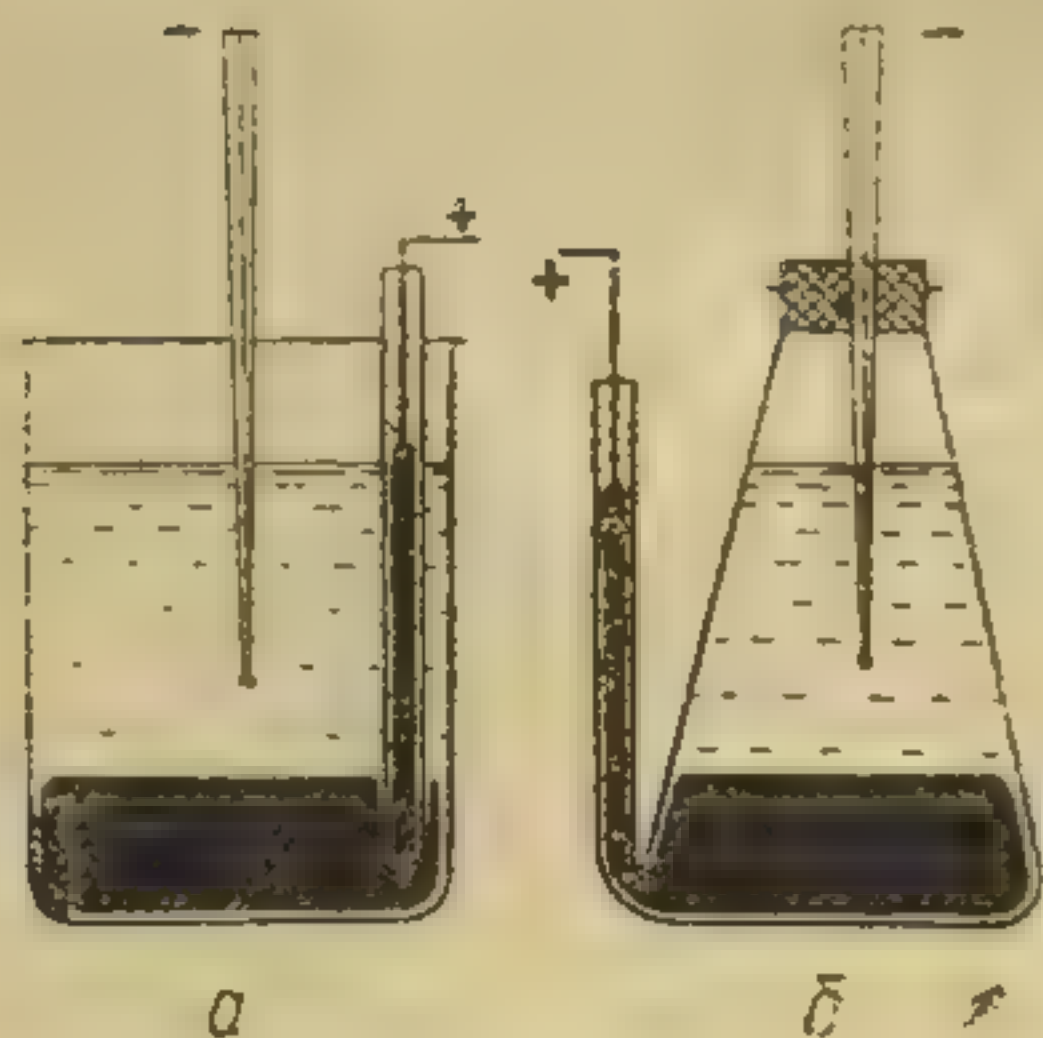


Рис. 46. Простейшие электролизеры

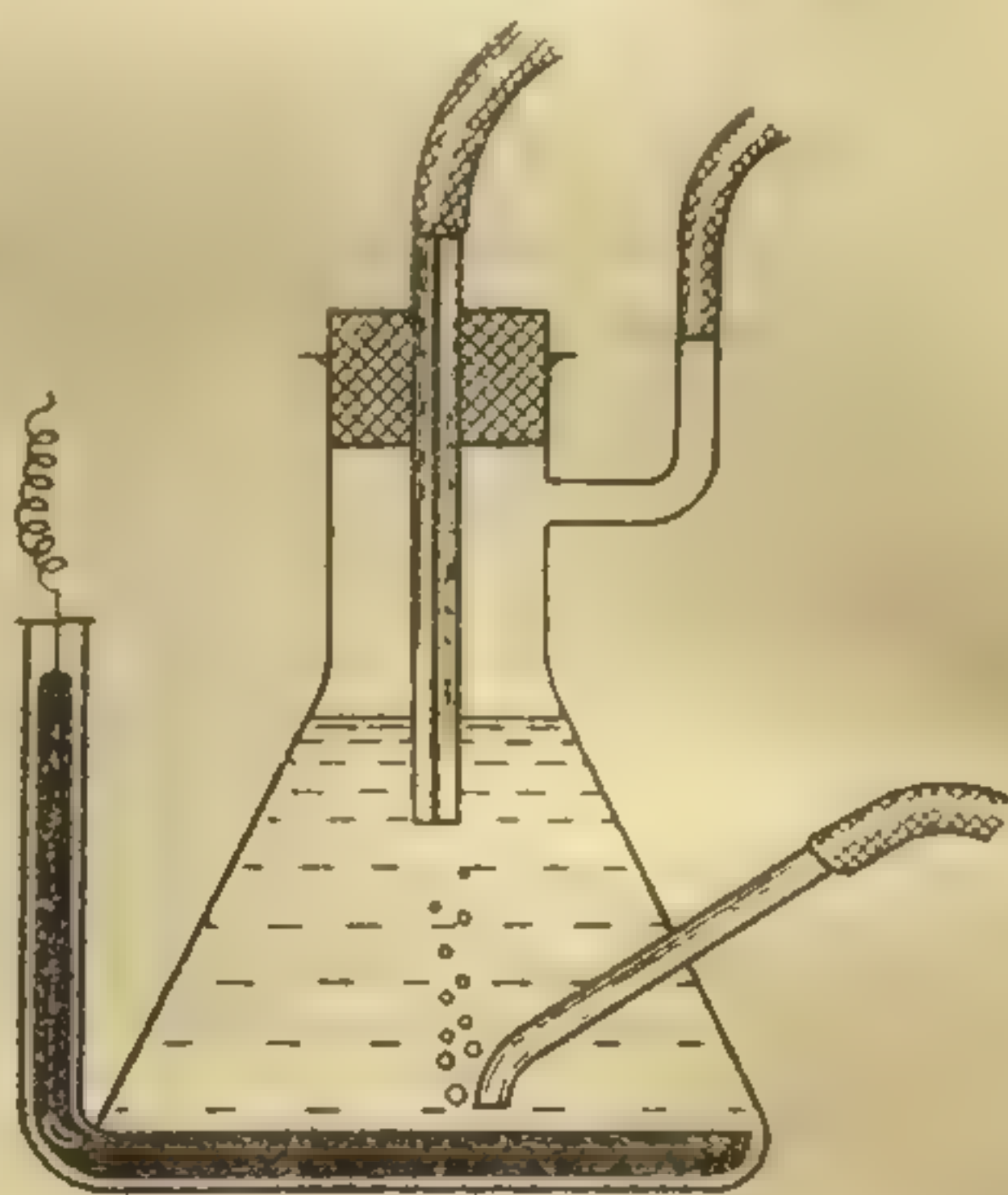


Рис. 47. Электролизер для пропускания водорода

Расстояние между капилляром и стенками сосуда должно быть не менее 5 мм. Электролизеры подобного типа могут применяться только для тех определений, которые проводят без удаления из раствора атмосферного кислорода.

Для определений, требующих удаления из раствора кислорода, сосуд должен быть закрыт и снабжен входной и выходной трубками для пропускания инертного газа. Наиболее простым является предложенный Я. Гейровским конический сосуд, показанный на рис. 47.

Недостатком электролизеров первого типа является то, что они не могут быть использованы для массовых определений. После каждого анализа необходимо удалять отработанную ртуть, мыть, сушить электролизер и наливать в него чистую сухую ртуть. Это отнимает много времени и не позволяет достичь высокой производительности труда, которую может обеспечить полярграфия как инструментальный метод анализа. Кроме того, расходуется много чистой ртути. Например, с

одним килограммом ртути можно выполнить 15--20 определений, после чего отработавшую ртуть необходимо очищать. Использование серии электролизеров, чтобы ускорить выполнение анализов, также невозможно, так как нарушается отрегулированное расстояние между капилляром и слоем ртути, что сильно отражается на высоте волны.

Для выполнения массовых, серийных анализов применяют электролизеры с внешним электродом сравнения. Большим преимуществом такого электролизера является то, что он позволяет проводить массовые анализы. Для этого достаточно лишь располагать серией сосудов, которые при проведении анализа поочередно подключаются к внешнему электроду посредством агарового сифона с насыщенным хлористым калием. В качестве внешнего анода чаще всего используют насыщенный каломельный электрод. На дно сосуда наливают слой ртути, на который наносят слой пасты каломели, приготовленной на насыщенном растворе KCl , и затем сверху заливают насыщенным раствором хлористого калия.

Применение внешнего каломельного электрода при полярографировании удобно в том отношении, что потенциал анода остается постоянным независимо от концентрации или природы фона. Помимо этого, экономится большое количество ртути. Если, как это указывалось выше, на 15 определений расходуется 1 кг ртути, то с этим количеством, применяя электролизер с внешним анодом, можно выполнить около 500 определений. При этом следует учитывать то, что очистка ртути является сложной и весьма трудоемкой операцией.

Электролитические сосуды для полярографических определений с внешним анодом бывают различной формы. Очень удобен обычный химический стаканчик, соединенный агаровым сифоном с внешним анодом — насыщенным каломельным электродом. Подготовив серию таких стаканчиков с исследуемыми растворами, их можно быстро анализировать, устанавливая стаканчик один за другим на маленькую подставку под капилляром.

В лаборатории зоогигиены СибНИВИ хорошо зарекомендовал себя электролизер с внешним анодом оригинальной конструкции, позволяющий проводить определения без удаления и с удалением кислорода. Катодным сосудом служит маленькая пробирочка емкостью в 2—4 мл. В случае необходимости удалить кислород, пробирки закрываются пробками, в которые вставляются две трубочки: одна для входа, другая для выхода инертного газа. Шесть таких пробирочек соединяются последовательно резиновыми трубками и через эту «батарею» пропускают инертный газ в течение 30 минут, а затем поочередно полярографируют растворы.

Простейшая установка для полярографического анализа может быть собрана в лаборатории

(рис. 48) из источника электродвижущей силы (ЭДС), зеркального гальванометра, электролизера с внутренним или внешним электродом сравнения, вольтметра, реохорда и трех реостатов, один из которых низкоомный, а два высокоомных.

Принцип работы установки: от источника ЭДС 1, которым служит батарея аккумуляторов на 4—6 в, напряжение подается на концы реохорда 2. Напряжение регулируется реостатом 3, сопротивление которого в 5—10 раз превышает со-

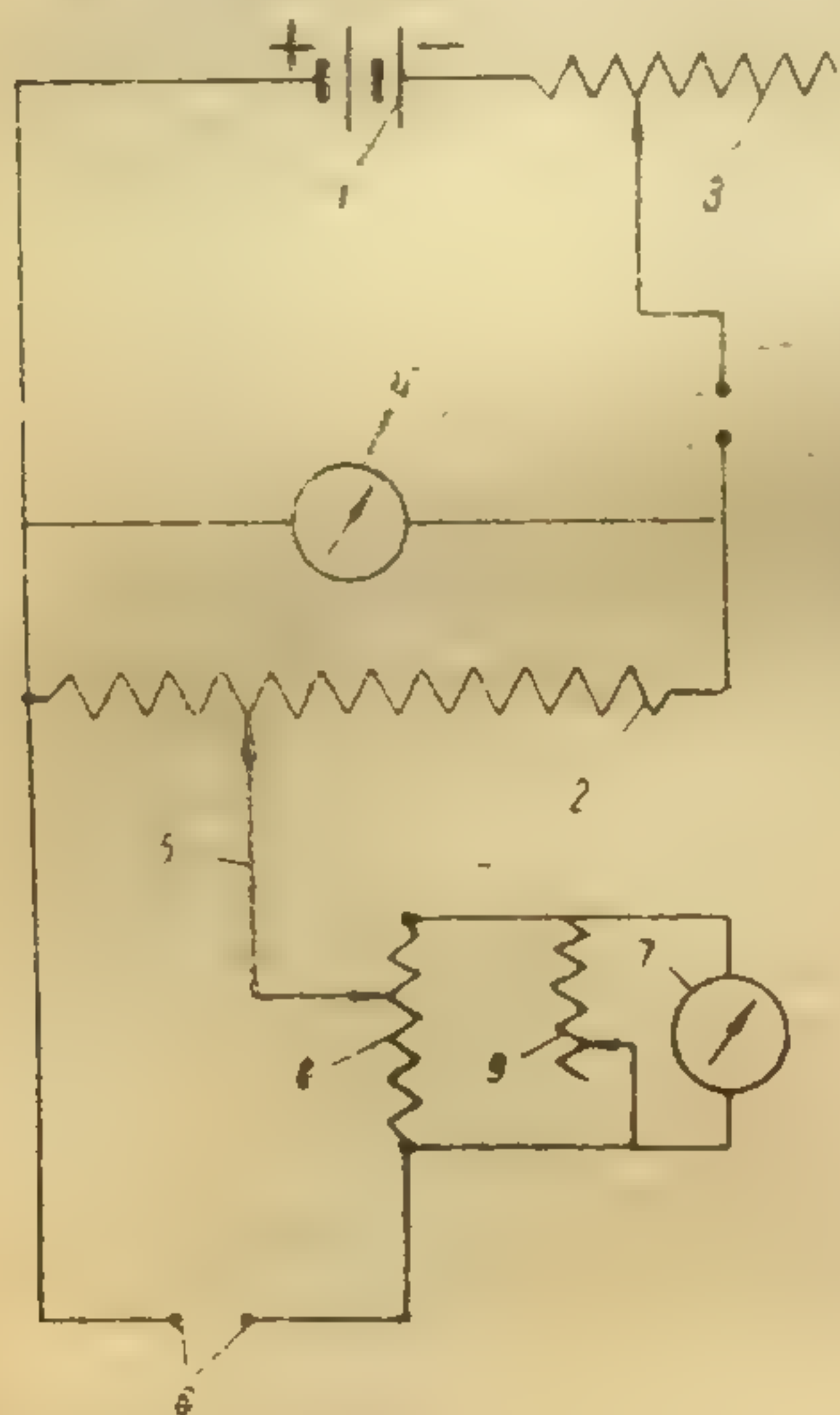


Рис. 48. Схема простейшей визуальной полярографической установки:

1 — источник тока; 2 — реохорд; 3 — реостат; 4 — вольтметр; 5 — подвижный контакт; 6 — электролизер; 7 — гальванометр; 8, 9 — шунты гальванометра

противление реохорда, и измеряется вольтметром 4, рассчитанным на 4—5 в. При помощи подвижного контакта 5 напряжение подается на электролизер 6. Проходящий через электролизер ток измеряется гальванометром 7, снабженным шунтом Айртона 8, позволяющим в известных пределах менять чувствительность гальванометра. Кроме того, гальванометр имеет еще и шунт 9, обеспечивающий торможение катушки гальванометра и возможность установки его максимальной чувствительности. Меняя положение подвижного контакта 5, можно в широких пределах (от нуля до полной ЭДС аккумулятора) изменять электрическое напряжение, подаваемое на электролизер.

Указанная схема лежит в основе полярографической аппаратуры. Но это только принцип работы, что касается вообще схем полярографов и особенно автоматических и электронно-лучевых приборов, то они очень сложны. Их описание и принцип работы

приводятся в соответствующих инструкциях, прилагаемых к тем или иным моделям полярографов.

Полярографическая аппаратура делится на визуальную и автоматическую. Визуальные полярографы отличаются простотой своего устройства и нашли довольно широкое применение, в первую очередь в промышленности. Их основным недостатком является необходимость вычерчивания от руки (на миллиметровой бумаге) полярографических кривых, что является очень сложной операцией.

Трудно также отсчитывать на шкале положение светового

указателя из-за больших осцилляций, которые имеют место при использовании высокой чувствительности гальванометра. Но с такими чувствительностями часто приходится иметь дело при проведении биологических исследований (определение микроэлементов, витаминов и других веществ). В некоторых случаях исследователя может интересовать не только высота волны, но и сама форма полярографических кривых. Для получения же такой полной кривой пришлось бы произвести сотни отсчетов силы тока, что является невозможным. Из сказанного следует, что в биологических исследованиях визуальные полярографы имеют ограниченное применение.

Автоматические самопишущие полярографы. Эти приборы имеют ряд усовершенствований, расширяющих возможности их применения. Они обладают большой скоростью выполнения определений: анализ подготовленного раствора и запись результатов длятся 2—4 мин. Еще более удобны приборы, записывающие полярограммы чернилами на обычной бумаге или электронным лучом на экране кинескопа. В этом случае отпадает операция проявления фотополарограмм, что еще более ускоряет проведение анализов.

Приводим принципиальную схему полярографа с автоматической фотозаписью полярограмм (рис. 49).

На дне электролитической ячейки 1 с исследуемым раствором находится неподвижный слой ртути, служащий анодом. В ячейку опущен ртутный капельный катод 2. Реохорд или потенциометрический барабан представляет собой цилиндр из изолирующего материала с намотанными на него 19 витками проволоки из никеля или константана. Реохорд присоединен к аккумулятору 4 на 4—6 в. Напряжение, подаваемое на весь реохорд, можно отрегулировать с помощью реостата и вольтметра и точно — по нормальному элементу. Анод соединен с плюсовым зажимом реохорда, катод — с под-

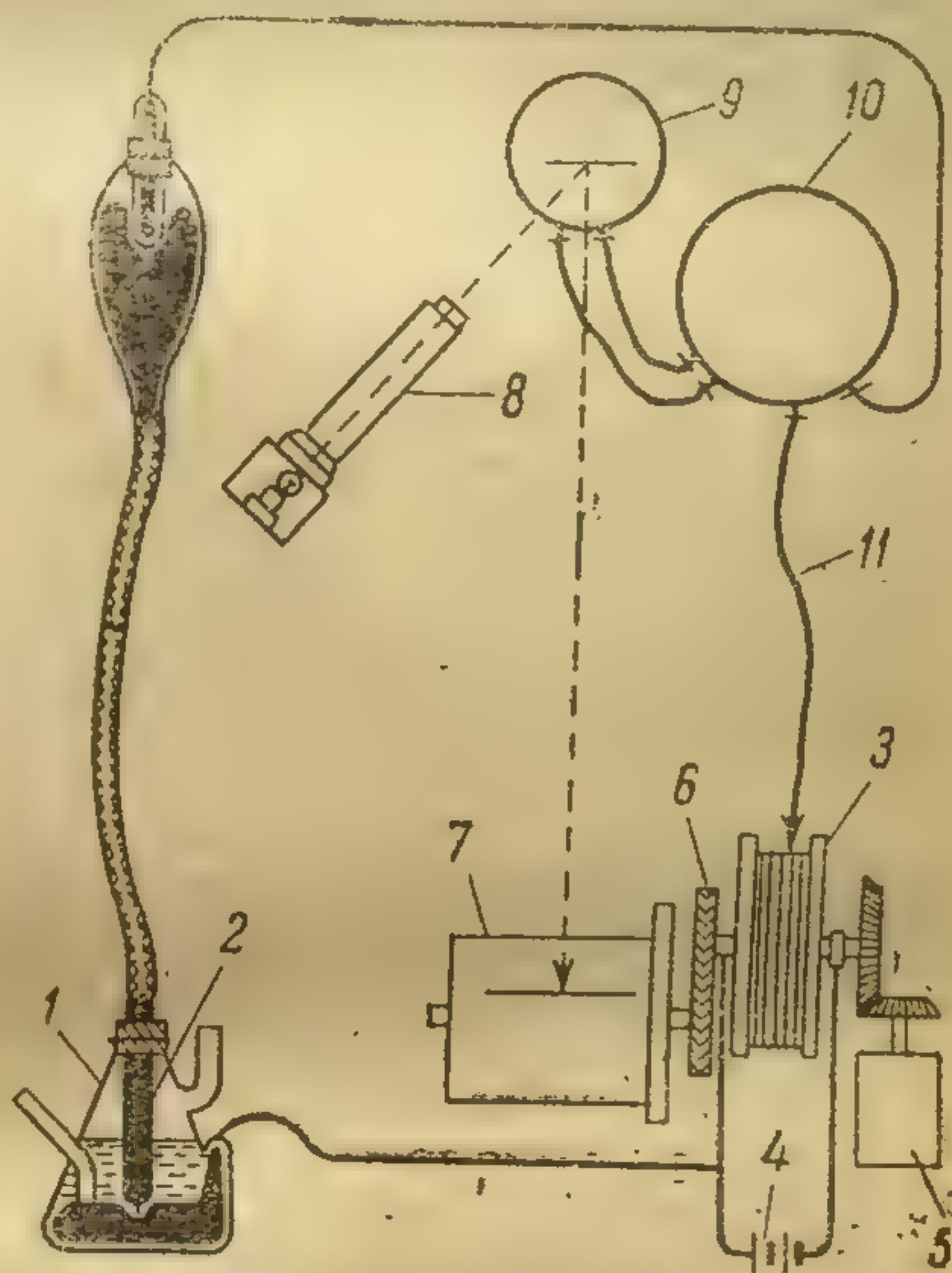


Рис. 49. Схема полярографа с автоматической фотозаписью

вижным контактом, передвигающимся по реохорду. С помощью этого контакта можно изменять напряжение на электролизере от нуля до полного напряжения, поданного на весь реохорд. Потенциометрический барабан приводится во вращение электромотором 5. При помощи механической передачи потенциометрический барабан соединен с фотобарабаном, снабженным лимбом с 19 делениями. Вращение обоих барабанов синхронизировано таким образом, что когда потенциометрический барабан делает один оборот (что соответствует напряжению, приходящемуся на 1 виток), то фотобарабан поворачивается на 1 деление лимба. Фотобарабан помещен в кожух, имеющий тонкую, расположенную вдоль, коллиматорную щель, которая открывается посредством затвора только во время съемки полярোগрамм. Каждый раз, когда потенциометрический барабан делает один оборот, т. е. увеличивается напряжение на 0,1 или на 0,01 в, автоматически вспыхивает электролампочка, расположенная сбоку от фотобарабана. Лампочка освещает коллиматорную щель и на фотобумаге фиксируется тонкая линия (ордината). Луч света от осветителя 8 падает на зеркальце гальванометра 9, чувствительность которого составляет одну миллиардную долю ампера на 1 мм деления шкалы.

Гальванометр имеет шунт — систему последовательно расположенных сопротивлений, подобранных в таком порядке, что каждое последующее сопротивление в точное количество раз больше предыдущего, посредством которого можно изменять его чувствительность в широких пределах. Например, величина чувствительности может составлять $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{25}$ и $\frac{1}{50}$ и т. д. от полной чувствительности гальванометра. При прохождении тока катушка гальванометра поворачивается вместе с прикрепленным к ней зеркальцем. Луч света, отраженный от зеркальца во время работы прибора, проходя через открытую коллиматорную щель, записывает на фотобумаге полярোগрафическую кривую, т. е. кривую зависимости силы тока от приложенного напряжения.

В настоящее время у нас выпускается полярोगраф: улучшенной модели СГМ-8 с автоматической записью полярোগрамм на фотобумаге и самопишущие полярोगрафы ПА-3 и Ц.Т.А., которые записывают полярোগраммы чернилами посредством механического пера на обычной бумаге. В последнее время разработана модель электронно-лучевого (осциллографического) полярोगрафа ОП-1-61. Запись полярোগрамм в этом приборе производится электронным лучом на экране электронно-лучевой трубки. Изображение, получающееся на экране, может быть сфотографировано с помощью специальной фотоприставки.

Полярोगраф ОП-1-61 обладает очень высокой чувствительностью, и при работе с электролитической ячейкой нового типа дает возможность определять концентрацию порядка миллионных долей процента. Это открывает широкие возможности в оп-

расследовании
зы. минута
результата
да, посто
личивает раз
лять послед
без их отде
полуволн. не
у нас при
рограф ЛП-53
модель поляр
полярোগрам
кривых и ком
ность прибор
компактным
кий микропол
Все его части
дятся в одно
этим прибором

Монтаж и

Полярोगра
помещениях,
кам, которые
гальванометра
кронштейне,
кронштейне д
капельным эл
закреплены, н
жения или ко
вой соедините
вильных кр
Каждый
по его прове
описание тол
торегистриру
Порядок
ческой устан
ного периода
целью резерв
штатива так,
гролизер нал
капилляра на
устанавливаю
15—30 капел
тервале 1,5—
Фоторегис
зуюсь прило
5 Зак. 57

разделении микроэлементов, так как позволяет проводить анализы, минуя очень трудоемкую операцию — экстрагирование микроэлемента из исследуемых растворов. Наличие в приборе узла, позволяющего получать производные кривые, сильно увеличивает разрешающую способность прибора: можно определять исследуемые вещества в присутствии других компонентов без их отделения, а также вещества с близкими потенциалами полуволн, не прибегая к их разделению химическим путем.

У нас приобрел большую популярность чехословацкий полярограф ЛП-55. Он представляет собой усовершенствованную модель полярографа Гейровского с автоматической записью полярограмм. Прибор имеет узел для получения производных кривых и компенсатор «бесфарадеевых токов». Чувствительность прибора порядка десятитысячных долей процента. Более компактным и весьма удобным в работе является чехословацкий микрополярограф, упрощенная конструкция модели М-102. Все его части, включая и регистрирующий гальванометр, находятся в одном футляре, что значительно облегчает пользование этим прибором.

Монтаж и проверка работы полярографической установки

Полярографические приборы необходимо устанавливать в помещениях, где стены и пол не подвержены вибрациям и толчкам, которые могут вызывать колебания подвесной системы гальванометра. Гальванометры должны быть установлены на кронштейне, вделанном в капитальную стену. На таком же кронштейне должна находиться и электролитическая ячейка с капельным электродом. Все части ячейки должны быть хорошо закреплены, находиться в устойчивом состоянии. Всякие движения или колебания электродов, контактов, раствора, резиновой соединительной трубки могут привести к получению неправильных кривых.

Каждый прибор имеет подробную инструкцию и указания по его проверке и пользованию им. В связи с этим будет дано описание только общей техники работы на автоматическом фоторегистрирующем и визуальном полярографах.

Порядок работы на полярографах. На любой полярографической установке начинают работу с установления определенного периода падения капель ртути из капилляра. С этой целью резервуар с чистой, сухой ртутью поднимают на штативе так, чтобы начала капать ртуть из капилляра. В электролизер наливают исследуемый раствор и погружают в центр капилляра на глубину 4—5 мм. Изменяя положение резервуара, устанавливают его на такой высоте, чтобы за 10 секунд падало 15—30 капель, т. е. устанавливают период падения капель в интервале 1,5—3 секунды.

Фоторегистрирующие приборы. Прибор следует собрать, пользуясь приложенной к нему инструкцией и схемой. После того

как полярнографическая установка собрана, т. е. полярнограф подключен к цепи постоянного и переменного тока, необходимо проверить исправность всей установки в целом, руководствуясь инструкцией.

В темной комнате или в специальной камере на фотографическом барабане закрепляют двумя пружинными зажимами лист фотобумаги необходимых размеров, так чтобы светочувствительный слой был обращен кверху. Затем фотобарабан вставляют в кожух, закрывают коллиматорную щель и устанавливают фотокамеру в соответствующее гнездо прибора.

Включают вольтметр и при помощи реостата на потенциометрическом барабане устанавливают необходимое напряжение (1, 2 или 4 в) в зависимости от потенциала восстановления определяемого вещества. Шунт гальванометра ставят на необходимую чувствительность для полярнографирования данного раствора. Подвижный контакт переводят на начало первого витка проволоки потенциометрического барабана. На нулевую отметку устанавливают лимб фотобарабана. Включают осветитель гальванометра и электрокорректором перемещают световой указатель на нулевое или другое выбранное положение на шкале гальванометра. После этого включают сцепление потенциометрического барабана с электромотором и затем электромотор.

На шкале прибора наблюдают волну исследуемого вещества, подбирают соответствующую чувствительность с тем, чтобы волна уложилась на фотобумаге. Включают электролампочку для нанесения отметок на абсциссе, открывают коллиматорную щель фотобарабана, включают сцепление и затем электромотор. По окончании съемки сначала закрывают щель фотобарабана, выключают мотор и гальванометр, а затем осветитель гальванометра и электролампочку отметки абсцисс.

При повторной съемке кривых на той же полярнограмме их необходимо сдвигать на одно-два деления по абсциссе и ординате, иначе будет происходить наложение кривых одна на другую, что сделает невозможным их расшифровку. Сдвиг по абсциссе осуществляется посредством лимба фотобарабана, сдвиг по ординате — с помощью электрокорректора.

Применение компенсатора нефарадеевских токов и корректора высоты волны

Нефарадеевскими называются токи, не связанные с восстановлением (или окислением) вещества на электроде. Это объясняется тем, что электролизер представляет собой электрическую емкость и аналогичен электролитическому конденсатору, на зарядку которого требуется определенное количество электрических зарядов. В связи с этим нефарадеевские токи называются еще и конденсаторными токами.

Они дают знать о себе при использовании высоких чувствительностей гальванометра и сильно искажают форму полярографических кривых, вытягивают волны, в связи с чем определение их высоты часто оказывается невозможным. Для их элиминирования в схеме полярографа имеется специальный узел, синхронно связанный с подвижным контактом реохорда. Во время полярографирования он посылает в гальванометр ток, равный по величине нефарадеевскому току, но обратный по направлению, погашая, таким образом, его.

Компенсатор нефарадеевских токов применяют при полярографировании малых концентраций определяемого вещества, т. е. при высокой чувствительности гальванометра. В соответствии с чувствительностью гальванометра подбирают такое положение ручки компенсатора (по шкале), при котором хорошо выражена форма волны, и этого положения придерживаются при полярографии серии растворов, содержащих одно и то же определяемое вещество.

В схеме полярографа имеется, кроме того, корректор высоты волны. Высота волны зависит от температуры. Она изменяется также при замене капилляра и от ряда других факторов. Для того чтобы использовать калибровочную кривую или расчетные формулы, полученные при иных условиях по сравнению с изменившимися условиями полярографирования, необходимо привести высоту волны к прежней величине. Для этих целей используется корректор высоты волны, с помощью которого можно повысить или понизить высоту волны и использовать, таким образом, калибровочную кривую, полученную в другое время и при других условиях.

Проведение полярографических определений

Разработка полярографической методики анализа заключается в подборе условий полярографирования, т. е. в составлении такого раствора, в котором получаются хорошо выраженные волны исследуемого вещества, обеспечивается разделение волн смеси веществ, устраняется действие мешающих примесей и обеспечивается пропорциональная зависимость между концентрацией полярографируемого вещества и высотой волны. При полярографическом анализе определяются также потенциалы полуволн исследуемых веществ.

Подготовка раствора. Полярографироваться могут только истинные растворы. В коллоидных растворах и суспензиях сильно тормозится диффузия ионов к капельному электроду. Если в растворе имеется осадок, то ему необходимо дать отстояться и для анализа брать нужные объемы из отстоявшегося прозрачного слоя над осадком. При выполнении этих условий можно исключить операцию фильтрования. Концентрации исследуемых веществ в растворах не должны превышать 0,1%.

Фон. Для устранения миграционного тока и увеличения электропроводности к исследуемому раствору прибавляют индифферентный электролит — «фон» — в таком количестве, чтобы его концентрация превышала количество определяемого вещества не менее чем в 100 раз. В качестве фонов могут быть использованы кислоты, основания, соли неорганических и органических кислот. В случае определения веществ, восстанавливающихся при потенциалах от $-1,8$ до $-2,0$ в и выше, применяются соли тетраалкиламмония R_4NX , где R обозначает радикал метил — CH_3 , этил — C_2H_5 или бутил — C_4H_9 , а X представляет собой Cl^- , Br^- или I^- ; например, тетраэтиламмоний-йодид $(C_2H_5)_4NI$.

Для веществ, восстанавливающихся при потенциалах выше $-2,0$ в, применяют бутильные производные, которые сами дают волну при большом значении отрицательного потенциала ($-2,9$ в). Для создания щелочной среды при полярографировании веществ, восстанавливающихся при слишком отрицательных потенциалах, применяют гидрат окиси тетраалкиламмония, например, тетраметиламмонийгидроксид $N(CH_3)_4OH$. Все эти вещества должны быть химически чистыми. Концентрация фона находится в пределах $0,1-1$ М в литре.

Подавление максимумов. Для подавления максимумов на полярографических кривых применяют поверхностно-активные вещества, например, $0,2-0,5\%$ -ный раствор желатины или столярного клея, метиловый красный и другие: 2 капли на 5 мл раствора. Следует обращать внимание на то, чтобы эти вещества сами не давали полярографической волны.

Удаление воздуха из раствора. Молекулярный кислород, содержащийся в каждом растворе, соприкасающемся с воздухом, восстанавливается на капельном ртутном электроде и мешает получению нормальных полярограмм. Для удаления кислорода через раствор в течение 15—20 минут пропускают инертный газ, водород или лучше азот, которые предварительно освобождают от содержащегося в них небольшого количества кислорода, пропуская их через щелочный раствор пирогаллола. В нейтральных и щелочных растворах неорганических веществ кислород связывают прибавлением твердого сульфита натрия (щепотка на кончике шпателя на 10—15 мл раствора).

Методика полярографического определения. В электролизер помещают исследуемый раствор и фон в определенном соотношении (1 : 1, 1 : 2) и прибавляют 1—2 капли раствора желатины.

Перед снятием полярографической кривой необходимо проверить, правильно ли выбрана чувствительность гальванометра, и ознакомиться с характером кривой. Для этого визуальнo на шкале полярографа наблюдают форму полярографической кривой и величину скачка силы тока по отклонению светового указателя при закрытой щели фотобарабана, вращая вручную

или с помощью электромотора потенциометрический барабан. Необходимо выбрать такую чувствительность, чтобы волна уложилась на фотобумаге.

Проверяют период падения капель ртути из капилляра.

Если на одном листе фотобумаги снимают несколько кривых, то для того, чтобы они не накладывались одна на другую, их сдвигают (как это было указано выше) по абсциссе и ординате с помощью лимба фотобарабана и электрокорректора гальванометра. После снятия кривых фотобумагу проявляют, фиксируют, промывают и высушивают. После этого измеряют высоту волны исследуемого вещества и рассчитывают его концентрацию.

Измерение высоты полярографической волны. Высоту полярографической волны измеряют по методу Гона следующим образом. Через середины осцилляций верхней и нижней частей кривой проводят две прямые линии и одну прямую через среднюю (прямолинейную) часть кривой. Из точек пересечения этих линий проводят две прямые линии, параллельные оси абсцисс. Расстояние между ними по перпендикуляру принимают за высоту волны.

Методы определения концентрации исследуемых веществ

Метод сравнения со стандартом. В начале и в конце анализа серии исследуемых растворов снимают полярограммы стандартного раствора, концентрация которого (мг/мл) должна быть близка к концентрации анализируемых растворов. Это необходимо для того, чтобы проводить полярографирование при одинаковых или близких чувствительностях гальванометра. Из полученных для стандартных растворов полярограмм находят среднюю высоту волны h_{cp} . Кроме того, получают полярографическую кривую фона и находят величину остаточного тока в интервале напряжений, в котором располагается волна исследуемого вещества.

Содержание определяемого вещества C_x в растворе рассчитывают по формуле:

$$C_x = \frac{C_0(h_x - h_0)}{h_c - h_0},$$

где C_0 — концентрация стандартного раствора, мг/мл;

h_c — высота волны стандартного раствора в делениях шкалы гальванометра;

h_x — высота волны исследуемого раствора;

h_0 — величина остаточного тока в делениях шкалы гальванометра.

Концентрацию определяемого вещества в процентах рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{C_x \cdot V \cdot 100}{m \cdot 1000},$$

где C_x — содержание вещества в полярографируемом растворе, мг/мл;

V — общий объем раствора, мл;

m — навеска материала, взятая для анализа, г.

Полярографирование стандартных и исследуемых растворов должно проводиться при одинаковом соотношении объемов раствора и фона. В растворы прибавляют одно и то же количество капель раствора желатины (на определенный объем).

Метод калибровочных кривых. Незвестную концентрацию определяют по измеренной высоте волны при помощи калибровочного графика. Для построения калибровочной кривой навеску химически чистого вещества растворяют в мерной колбе на 100 мл. Допустим, что в навеске содержалось 100 мг определяемого элемента, тогда в 1 мл раствора будет 1 мг данного элемента. Затем берут 5 мерных колб емкостью по 100 мл и вносят в каждую из них определенное количество мл стандартного раствора, доводят объем до 100 мл и перемешивают. Получается ряд растворов с различной концентрацией.

Эти растворы последовательно полярографируют при одинаковой чувствительности гальванометра, получают полярографические волны и измеряют их высоты. После этого на миллиметровой бумаге строят калибровочную кривую, откладывая на оси абсцисс концентрации стандартных растворов в мг/мл, а на оси ординат — соответствующие высоты волн.

В таких же условиях получают полярограммы исследуемых растворов и по высотам волн с помощью калибровочной кривой определяют концентрацию определяемого элемента.

Составление графиков занимает длительное время, их необходимо часто проверять и при изменении условий полярографирования составлять заново. В связи с этим метод менее удобен по сравнению с другими методами определения концентрации. Он оправдывает себя только при выполнении серийных анализов однородных проб.

Метод стандартных добавок. Сначала полярографируют определенный объем исследуемого раствора и измеряют высоту волны h_1 , характеризующую концентрацию определяемого вещества. Затем к этому же раствору добавляют определенный объем стандартного раствора, вследствие чего концентрация становится больше. Раствор снова полярографируют и измеряют высоту волны h_2 , соответствующей новой концентрации.

Содержание определяемого вещества в растворе, взятом в электролизер, рассчитывают по формуле:

$$C_x = \frac{h_1 \cdot V_2 \cdot C_{см}}{(h_2 - h_1)(V_1 + V_2) + h_1 V_2},$$

где C_x — концентрация раствора, мг/мл;

$C_{см}$ — концентрация определяемого вещества в стандартном растворе, мг/мл;

h_1 — высота волны исследуемого раствора;

h_2 — высота волны после добавления стандартного раствора;

V_1 — объем раствора, взятый в электролизер, мл;

V_2 — объем добавленного стандартного раствора, мл.

Содержание вещества в процентах в пробе материалов, взятого для анализа, рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{C_x \cdot V \cdot 100}{m \cdot 1000},$$

где V — общий объем раствора;

m — навеска пробы, г.

Метод добавок имеет особое значение при полярографировании растворов, для которых неизвестен состав посторонних веществ и их приблизительная концентрация, а также в случае анализа сложных многокомпонентных растворов, с которыми приходится иметь дело в биологических исследованиях. Метод пригоден при условии существования прямой пропорциональности между высотой волны и концентрацией исследуемого раствора.

Работа с ртутью и ее очистка

Ртуть, применяемая для капельного электрода, должна быть чистой и сухой, не содержать амальгам металлов. Загрязненная и влажная ртуть прилипает к стенкам капилляра и может явиться причиной больших погрешностей в анализах.

Для очистки от механических примесей ртуть фильтруют через бумажный фильтр, в центре которого толстой иглой прокалывают отверстия. После этого ртуть промывают дистиллированной водой в толстостенной делительной воронке. Для удаления металлов ее пропускают 2—3 раза через специальную стеклянную колонку (высотой 85—100 см), наполненную 10%-ной азотной кислотой, и затем 2—3 раза через эту же колонку, которую наполняют 5%-ным раствором нитрата одновалентной ртути в 5%-ной азотной кислоте. Раствор для очистки меняют 3 раза. Затем ртуть промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции по лакмусовой бумаге. Промытую ртуть высушивают кусочками фильтровальной бумаги, каждый раз погружая в нее новую бумажку, пока она не станет сухой. Сухую ртуть фильтруют через бумажный фильтр (в котором иглой сделаны отверстия) в чистую сухую склянку, которую плотно закрывают чистой сухой резиновой пробкой.

Для определения следов веществ и проведения специальных полярографических исследований следует пользоваться перегнанной ртутью марки Р-1.

При работах с ртутью необходимо соблюдать меры предосторожности, чтобы предохраниться от отравления: не проливать ее на лабораторные столы и пол, электролитическая ячейка и склянки с ртутью должны находиться в эмалированном кюве-

те или на жестяном противне, окрашенном черным лаком, по окончании анализов надо тщательно осмотреть противень или кювету и при обнаружении капель ртути немедленно собрать их амальгамированной медной лопаточкой, изготовленной из медного кабеля.

Стены лаборатории должны быть окрашены масляной краской не ниже двух метров от пола, а полы и столы покрыты линолеумом. Швы и щели у плитусов нужно тщательно зашпаклевать и покрасить масляной краской. Все работы по очистке ртути необходимо проводить в вытяжном шкафу. По возможности стараться не вдыхать паров ртути и не касаться ее руками, особенно если на руках повреждена кожа.

Склянки с ртутью должны быть всегда плотно закрыты резиновыми пробками. Если приходится временно оставлять отработанную ртуть в стакане или склянке, то сверху должен находиться слой воды.

Перед началом работы и по ее окончании необходимо хорошо проветривать лабораторное помещение.

Фотобумага, проявитель и фиксаж

Для записей полярнографических кривых применяется специальная фотобумага в рулонах шириной 12 см, а также обычная — в пачках. Для этой цели подходит фотобумага «Унибром», контрастная тонкая № 4 и № 5 размером 24×30 см. Каждый лист такой бумаги разрезают на три части. Получается три листа бумаги размером 10×24 см. Можно использовать также фотобумагу размером 10×24 см и фотобумагу размером 18×24 см, если разрезать лист на 2 части по 9×24 см.

Раствор А: 5 г метола, 10 г гидрохинона и 100 г кристаллического сульфита натрия растворяют в воде и объем доводят до 1 л.

Раствор Б: 100 г безводной соды и 1 г бромида калия растворяют в воде и объем доводят до 1 л.

Для получения проявителя смешивают равные объемы растворов А и Б и разбавляют смесь в два раза водой.

Фиксаж готовят, растворяя 200 г гипосульфита в 1 л воды.

После обработки и сушки фотобумага дает усадку примерно на 2—3%. На эту же величину уменьшается и высота полярнографической волны. Чтобы это не отразилось на точности анализов, необходимо пользоваться одной и той же пачкой фотобумаги.

Техника работы на автоматическом полярографе ЛП-55А

Зарядка фотокассеты. 1. Освобождают фотокамеру поворотом крыльчатого зажима влево на 1 оборот и удаляют ее из гнезда прибора.

2. В темной комнате, при красном свете, на фотобарабане зажимом закрепляют лист фотобумаги размером 10×24 см. На нем можно записать 10—12 анализов.

3. Фотобарабан вставляют в фотокамеру, кнопку световой щели поворачивают на положение «S» (закрыто), устанавливают фотокамеру на место и закрепляют поворотом зажима вправо.

Подготовка прибора к выполнению анализов. 1. Прибор включают в сеть переменного тока посредством специального электрошнура со штепсельной вилкой, после чего главный выключатель необходимо повернуть вверх к надписи «ON».

2. Включают осветительную систему гальванометра поворотом вверх выключателей на консоли гальванометра, укрепленной на стене, и на правой стороне прибора.

3. Желтый провод (плюсовый) аккумулятора присоединяют к плюсовому зажиму прибора. Зеленый (минусовый) провод остается все время включенным.

4. Выключают передачу мотора поворотом ручки на себя до отказа к надписи «OFF» (выключено).

5. Переключатель скорости устанавливают на нуль, а ручку сцепления поворачивают до отказа к надписи «ON».

6. Лимб реохорда устанавливают на напряжение 4 в по красной шкале.

7. Поворотом ручки «BAT» от себя до отказа включают на реохорд аккумулятор. При этом стрелка вольтметра устанавливается около 4 в.

8. Регулятор чувствительности устанавливают на положение 1/10000.

9. Переключатель поляризации переводят в положение (по красной шкале) 0—4 в случае определения катионов.

Для случая анодно-катодной поляризации капельного электрода переключатель ставят на положение +1—3.

10. Для точной настройки прибора по нормальному элементу на 20—30 секунд нажимают на кнопку «STAND». Если при этом наблюдается смещение светового луча гальванометра на шкале, вращением ручки «STAND» его устанавливают на исходное положение.

11. Лимб реохорда возвращают на положение нуль.

12. Отключают передачу мотора и переключатель скорости устанавливают на «—400 *mv/min*» по красной шкале, после чего передачу снова включают.

13. Ручку реле устанавливают на 1,9 в по черной шкале.

14. Включают отметку абсциссы поворотом выключателя к надписи «ABSCIS».

15. Лимб фотокамеры ставят на нуль и открывают световую щель фотокамеры (положение кнопки на индексе «0»).

16. Включают мотор нажатием кнопки «MOTOR» на 20—30 секунд.

17. Прибору дают работать до автоматического выключения. За это время на фотобумагу будет нанесена координатная сетка, необходимая для расшифровки полярограммы.

18. Как только прибор перестал работать, сейчас же закрывают световую щель фотокамеры и выключают отгнетку абсциссы.

Техника выполнения анализов. 1. Клеммы электролизера включают в соответствующие гнезда прибора согласно имеющемуся там рисунку.

2. В катодную пробирку помещают исследуемый раствор и «фон», пропускают в случае надобности водород в течение 30 минут, добавляют 1—2 капли раствора желатины.

3. Катодную пробирку помещают в пробку-штатив, устанавливают на подставку и посредством агарового сифона соединяют ее с анодным сосудом.

4. Над раствором устанавливают капельный электрод, поднимают и закрепляют на штанге штатива (на определенной высоте) держатель ртутного резервуара и закрепляют его винтовым зажимом.

5. После этого погружают капельный электрод в раствор примерно на 5 мм и в таком положении закрепляют. Во избежание выхода из строя капельный электрод нельзя погружать в раствор до тех пор, пока не поднят резервуар с ртутью.

6. Выключают передачу, лимб реохорда устанавливают на нуль и снова включают передачу. Ручку реле ставят на величину напряжения, соответствующую окончанию записи волны.

7. Устанавливают необходимую чувствительность, открывают световую щель фотокамеры и включают мотор.

8. Прибору дают работать до автоматической остановки, после чего закрывают световую щель фотокамеры. На этом анализ раствора закончен. Приступают к анализу следующего раствора.

9. Выключают передачу, лимб реохорда возвращают на нуль и передачу снова включают.

10. Удаляют катодную пробирку с отработанным раствором, раствор с ртутью сейчас же сливают в склянку и закрывают пробкой. Под капилляр и сифон подставляют стаканчик и промывают их струей воды из промывалки.

11. Следующую катодную пробирку ставят в пробку-штатив, погружают в раствор сифон и электрод и устанавливают на подставке.

12. Лимб фотокамеры устанавливают на деление 1, открывают щель камеры, включают мотор и записывают на фотобумагу волну второго раствора.

Дальше эти операции повторяются. При каждом новом анализе лимб фотобарабана сдвигают на одно деление.

Приведение прибора в нерабочее состояние. 1. Над стаканчиком тщательно при помощи промывалки промывают водой капельный электрод, обсушивают с боков и торца кусочками фильтровальной бумаги, опускают резервуар до прекращения падения капель ртути, затем капилляр поворачивают концом кверху, закрывают его стеклянным или бумажным колпачком и в таком положении закрепляют. До тех пор, пока капилляр не вымыт и не обсушен, нельзя опускать ртутный резервуар, так как это приведет к порче капилляра.

2. Удаляют агаровый сифон, боковой отросток анода закрывают пробкой. Сифон кладут в сосуд, наполненный насыщенным раствором KCl.

3. Регулятор чувствительности ставят на отметку 1/10 000.

4. Отключают аккумулятор от реохорда поворотом ручки «ВАТ» к себе до отказа.

5. Выключают осветитель гальванометра с помощью выключателей на консоли гальванометра и на правой стороне прибора.

6. Выключают переменный ток посредством главного выключателя и отключают электрошнур от сети переменного тока.

7. Выключают передачу, и лимб реохорда переводят на нуль.

8. От плюсовой клеммы прибора отключают желтый (плюсовой) провод аккумулятора.

Проявление полярограммы. 1. В темной комнате, при красном свете, снимают с фотобарабана фотобумагу, проявляют и фиксируют ее обычным способом.

2. Полярограмму кладут на стекло изображением вверх, дают ей высохнуть, после чего отмечают номер каждой кривой согласно записи.

3. Для экономии времени проявление можно начинать тогда, когда накопится 5—6 полярограмм. В таком случае по окончании всех записей фотобумагу отмечают, кладут в черный пакег, а фотобарабан заряжают новой бумагой и продолжают анализ.

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФРАКЦИЙ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ

Принцип метода. Молекула белка содержит как основные, так и кислые поляризующиеся группы, которые, диссоциируя, обуславливают свободный электрический заряд этих молекул. Величина и знак заряда зависят от соотношения различных поляризующихся групп в молекуле и от рН среды, оказывающей влияние на диссоциацию этих групп. Молекулы белка под воздействием постоянного электрического поля перемещаются к тому полюсу, заряд которого противоположен их заряду. Так,

например, белки сыворотки при рН 8,6 заряжены отрицательно и перемещаются к аноду. Скорость передвижения пропорциональна величине их заряда и напряжению приложенного электрического тока. Сыворотка крови животных—сложная смесь десятков белков, некоторые из них различаются по величине заряда и поэтому перемещаются с разной скоростью. Это позволяет разделить их на 5 основных электрофоретических фракций: альбумины α_1 , α_2 , β и γ -глобулины.

Несмотря на то, что ни одна из этих фракций не является индивидуальным белком, знание их абсолютного содержания и соотношения представляет значительный интерес для диагностики и изучения состояния организма животных.

Электрофоретическое изучение сыворотки раньше производили по методу «подвижной границы» при помощи очень сложных приборов, сконструированных Тизелиусом. В последние годы широкое распространение получил метод электрофореза на бумаге. Он основан на проведении электрофоретического разделения белков сыворотки на полоске фильтровальной бумаги, смоченной буферным раствором, и выявлении результатов разделения при помощи обработки этих полосок красителями, специфически окрашивающими белки.

Реактивы. 1. Быстро впитывающая хроматографическая бумага, ватман № 1.

2. Буферные растворы:

а) вероналовый буфер (рН 8,6): 10,32 г мединала (натриевая соль веронала) растворяют в 300 мл дистиллированной воды, добавляют 1,84 г веронала и нагревают на водяной бане до его растворения, затем объем раствора доводят до 1 л дистиллированной водой;

б) веронал — ацетатный буфер (рН 8,6): в 300 мл дистиллированной воды растворяют 8,71 г веронала, 1,89 г едкого натра и 6,48 г уксуснокислого натрия. К раствору приливают 60 мл 0,1 М соляной кислоты и доводят его объем до 1 л дистиллированной водой.

3. Полоски бумаги после электрофореза окрашивают одним из следующих растворов:

а) краситель с сулемой для окраски бромфеноловым синим: бромфенолового синего (индикатора) 0,5 г, сулемы 10 г, уксусной кислоты (ледяной) 50 г, дистиллированной воды 900 мл;

б) раствор для окраски кислотным сине-черным (краситель, аналогичный «амидошварцу 10В»): красителя кислотного сине-черного 0,2 г, уксусной кислоты 100 мл, метилового спирта 900 мл.

4. Растворы для отмывания красителя, не связавшегося с белками: а) уксусной кислоты (ледяной) 20 мл, воды (можно водопроводной) 860 мл; б) уксусной кислоты (ледяной) 100 мл, фенола (расплавленного) 40 мл, воды 860 мл.

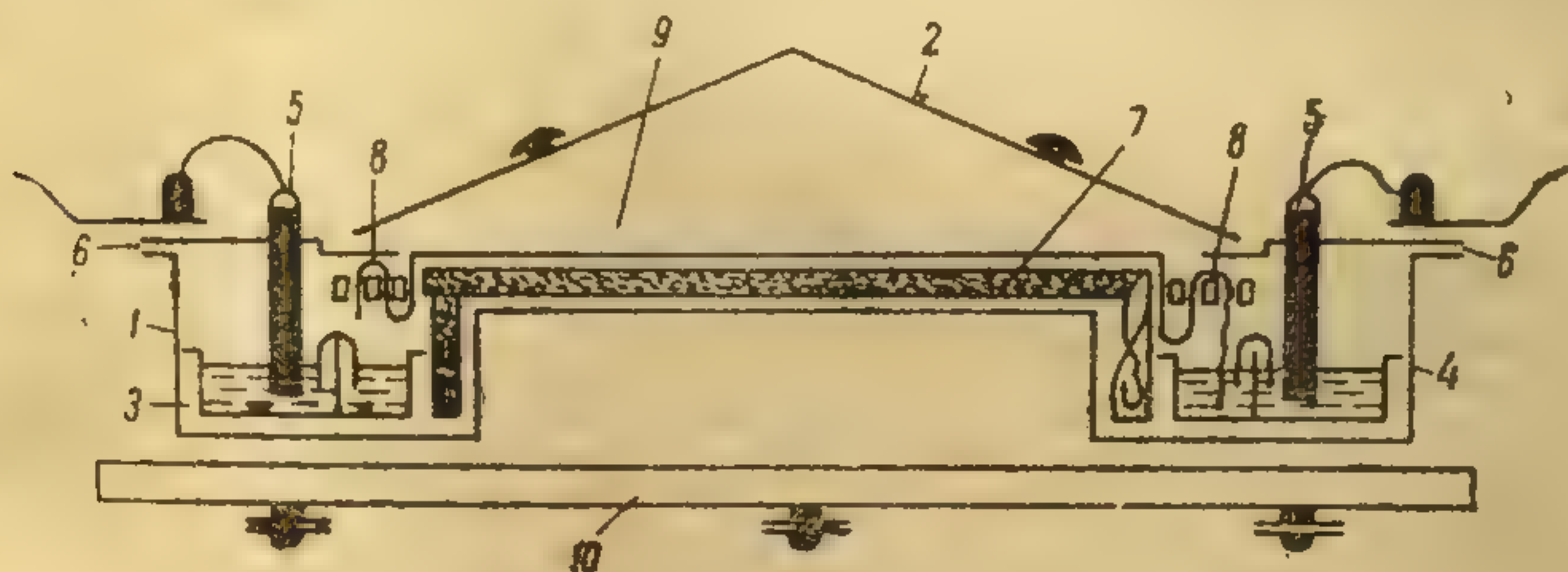
5. Щелочной метанол (метиловый спирт) для извлечения

бромфенолового синего из окрашенных полосок бумаги: к 500 мл метилового спирта добавляют при помешивании 500 мл 2%-ного раствора углекислого натрия. Для удаления выпавших кристаллов раствор фильтруют через бумажный фильтр.

6. Жидкости для промасливания полосок бумаги (электрофореграмм) перед записью плотности окраски на денситометре: вазелиновое масло, содержащее 10% α -бромнафталина, или вазелиновое масло без примесей.

Приборы. Для проведения электрофореза на бумаге необходимы:

- 1) камера, в которой проводится электрофоретическое разделение фракций белков;
- 2) источник постоянного тока;
- 3) колориметр (лучше электрофотоколориметр) для определения количества извлеченного («элюированного») из электрофореграмм красителя.



Р и с. 50. Схема электрофоретической установки ЭФА-1

Вместо колориметра удобнее пользоваться специальным самопишущим прибором — денситометром, позволяющим определять содержание красителя прямо на бумаге без предварительного его извлечения.

На рис. 50 показано устройство выпускаемого нашей промышленностью прибора ЭФА-1. Он состоит из камеры 1, сделанной из толстого стекла и снабженной крышкой 2. В камере расположены две электродные кюветы 3 и 4, которые в случае надобности могут быть легко удалены из камеры. Каждая кювета разделена продольной перегородкой на две половины, в которые опущены концы вертикально расположенных угольных электродов 5. Электроды укреплены на съемной пластинке 6, присоединяемой к камере при помощи двух пружин. В камере находится съемная рамка 7, в которой при помощи лабиринта 8 укрепляют и натягивают бумажные ленты 9. Камера помещена на деревянной подставке с упорами 10.

Имеются и другие модели приборов, выпускаемые в Киеве, сделанные из плексигласа. Камера, в которой на обращенных остриями вверх конусах размещены бумажные полосы, имеет

очень малый объем. Она снабжена крышкой и свободно лежит на электродных кюветах, которые в свою очередь свободно стоят на подстилке. Один из электродов (анод) сделан из платины, а второй (катод) — из нержавеющей стали.

Прибор ЭФА-1 снабжен хорошо стабилизированным ламповым выпрямителем, позволяющим подавать на клеммы камеры для электрофореза постоянный ток напряжением от 50 до 1000 в и силой до 50 миллиампер. Величину напряжения и силу тока контролируют по вольтметру и миллиамперметру, вмонтированным в прибор. Выпрямитель к прибору, выпускаемому в Киеве, также имеет как трехступенчатую грубую, так и тонкую плавную регулировку. Он позволяет получать напряжение до 400 в и силу тока до 20 миллиампер.

Определение количества красителя, элюированного из электрофореграммы. Количество красителя, извлеченного из бумажной полосы, можно определять с помощью колориметра и гораздо более точно — с помощью фотоэлектроколориметра.

Время, затрачиваемое на обработку окрашенных электрофореграмм, резко снижается, если концентрацию красителя в различных участках определяют не в растворе после предварительного извлечения из бумаги, а прямо на бумаге. Денситометры вычерчивают кривую распределения оптической плотности или концентрации красителя по длине электрофореграммы.

Фотометрирующее устройство его состоит из источника света, механического устройства, позволяющего перемещать электрофореграмму между осветителем и фотоэлементом. Возникающие при этом фототоки подводятся к схеме электронного автоматического потенциометра, с помощью которого записываются кривые плотности на миллиметровой бумаге посредством обычного самописца.

При работе с денситометрами необходимо учитывать, что определение количества красителя на бумаге несколько менее точно, чем определение его в растворе после элюирования. Значительное осложнение вносит рассеивание света бумагой, для уменьшения которого ее промасливают вазелиновым маслом.

В денситометре, входящем в комплект прибора ЭФА-1, механизировано как протягивание электрофореграммы, так и определение оптической плотности ее окрашенных участков. Результаты электрофореза записываются в виде кривой, характеризующей концентрацию красителя, а следовательно, и связанных с ним фракций белка в отдельных участках бумаги.

Подготовка камеры для проведения электрофореза на приборе ЭФА-1. При помощи вмонтированных в подставку упоров и уровня камеру устанавливают горизонтально. Крышку камеры открывают и вынимают рамку для натягивания бумажных полос. Пластинку с электродами отсоединяют от камеры. Электродные кюветы удаляют из прибора, наполняют точно до одинакового уровня и обе половины каждой кюветы соединяют

одну с другой при помощи обычной фильтровальной бумаги. Затем кюветы ставят на место и укрепляют на ванне пластинку с электродами.

Из хроматографической бумаги вырезают полосы длиной 44 и шириной 4 см. Карандашом на расстоянии 12 см от того конца, который будет погружен в катодную кювету, отмечают место, куда будет наноситься сыворотка. На расстоянии 6 см от обоих концов полосы проводят линии, необходимые для ориентировки полос при их закреплении в рамке. Кроме того, на полосах бумаги записывают дату взятия пробы крови, ее номер, название или номер животного и т. д. Затем полосы закрепляют в рамке так, чтобы они были равномерно натянуты.

Рамку помещают в камеру таким образом, чтобы концы бумажных полос оказались помещенными в буферный раствор, налитый во внутренние половинки электродных кювет. Затем прибор закрывают крышкой и дают бумажным полосам пропитаться буферным раствором, после чего крышку снова снимают и на заранее отмеченные участки бумаги наносят сыворотку.

Таким образом подготавливают для электрофореза и другие камеры. Отличие состоит лишь в том, что в них бумажные полосы не крепят в рамке, а подвешивают на стеклянных палочках или свободную кладут на дно камеры на острие укрепленных там конусов. В самодельном приборе сыворотку наносят на середину бумажной полосы, а в приборе, выпускаемом в Киеве мастерскими института патологической физиологии им. Богомольца, — на расстоянии 12 см от конца полосы, опущенной в катодную кювету.

Нанесение сыворотки. На каждую полосу бумаги наносят по 0,01 или 0,005 мл недиализованной сыворотки. Для получения хорошо воспроизводимых данных необходимо всегда наносить строго одинаковое количество сыворотки. Сыворотку наносят не в виде пятна, а в виде поперечной полосы. Можно делать это при помощи пипетки или покровного стекла. Если сыворотку наносят при помощи микропипетки на 0,1 мл, то ее насасывают до метки 0,085. Пипетку зажимают между пальцами в вертикальном положении, причем ее верхнее отверстие не зажимают пальцем. Небольшое количество сыворотки не вытекает из пипетки, удерживаясь капиллярными силами. Слегка касаясь бумаги нижним краем пипетки, водят ее назад и вперед по бумажной полосе в поперечном направлении, пока мениск сыворотки не опустится до метки 0,035.

Сыворотку можно наносить также автоматической микропипеткой. Набрав сыворотку в пипетку, ее концом водят вперед и назад до тех пор, пока вся сыворотка не впитается в бумагу. Автоматическая пипетка обеспечивает строгое постоянство наносимого объема.

При нанесении сыворотки стеклом изучаемую пробу отмечают пипеткой и размазывают по краю покровного стекла ши-

риной 3—3,5 см. Стекло переворачивают каплей вниз, прикладывают под острым углом к поверхности бумаги и придерживают в этом положении несколько секунд, пока сыворотка не впитается. Недостатком этого метода, позволяющего получить четкое разделение, является то, что всегда некоторое количество сыворотки остается на стекле.

Проведение электрофореза. После нанесения сыворотки крышку камеры закрывают и через бумажные полосы начинают пропускать постоянный ток. Электрофоретическое разделение сыворотки на бумаге обычно производят при комнатной температуре и градиенте потенциала от 3 до 8 на 1 см длины полосы бумаги. Следовательно, при длине полосы 44 см к клеммам камеры необходимо подавать напряжение 120—350 в. Хорошее разделение сыворотки в приборе ЭФА-1 происходит при 127—210 в в течение 18 часов.

Сила тока в цепи зависит от подаваемого напряжения, pH буферного раствора, толщины бумаги и температуры, при которой происходит электрофоретическое разделение. Она прямо пропорциональна ширине бумажных полос и их числу. Сила тока не должна превышать 0,1—0,3 мА на каждый сантиметр поперечного разреза бумажной полосы, т. е. 0,4—1,2 мА на полосу в 4 см. Увеличение силы тока более чем в 2 раза против

указанной величины недопустимо, так как при этом происходит нагревание и значительно увеличивается испарение.

Фиксация и окраска бумажных полос после окончания электрофореза. После окончания электрофореза выключают ток, снимают крышку и извлекают бумажные полосы из прибора. При помощи грузиков, прикрепляемых к их концам, полосы подвешивают горизонтально на стеклянной рамке (рис. 51) и помещают на 20 минут в сушильный шкаф при 105°.

Поскольку связывание красителя белками при последующей обработке зависит от условий фиксации (температу-

ра, время прогрева), необходимо соблюдать их постоянство. Окраска бромфеноловым синим производится путем погружения бумажных полос на 20 минут в кюветы с красителем (стр. 140). Краситель, не связавшийся с белком, удаляют прополаскиванием электрофореграмм в 2%-ном растворе уксусной кислоты (стр. 140) до тех пор, пока участки бумаги, не содержащие белка, полностью не отмоются от красителя.

Как при окрашивании, так и при отмывании электрофореграммы нельзя класть одну на другую и сворачивать. Лучше всего обработку проводить в плоских кюветах, на дно которых

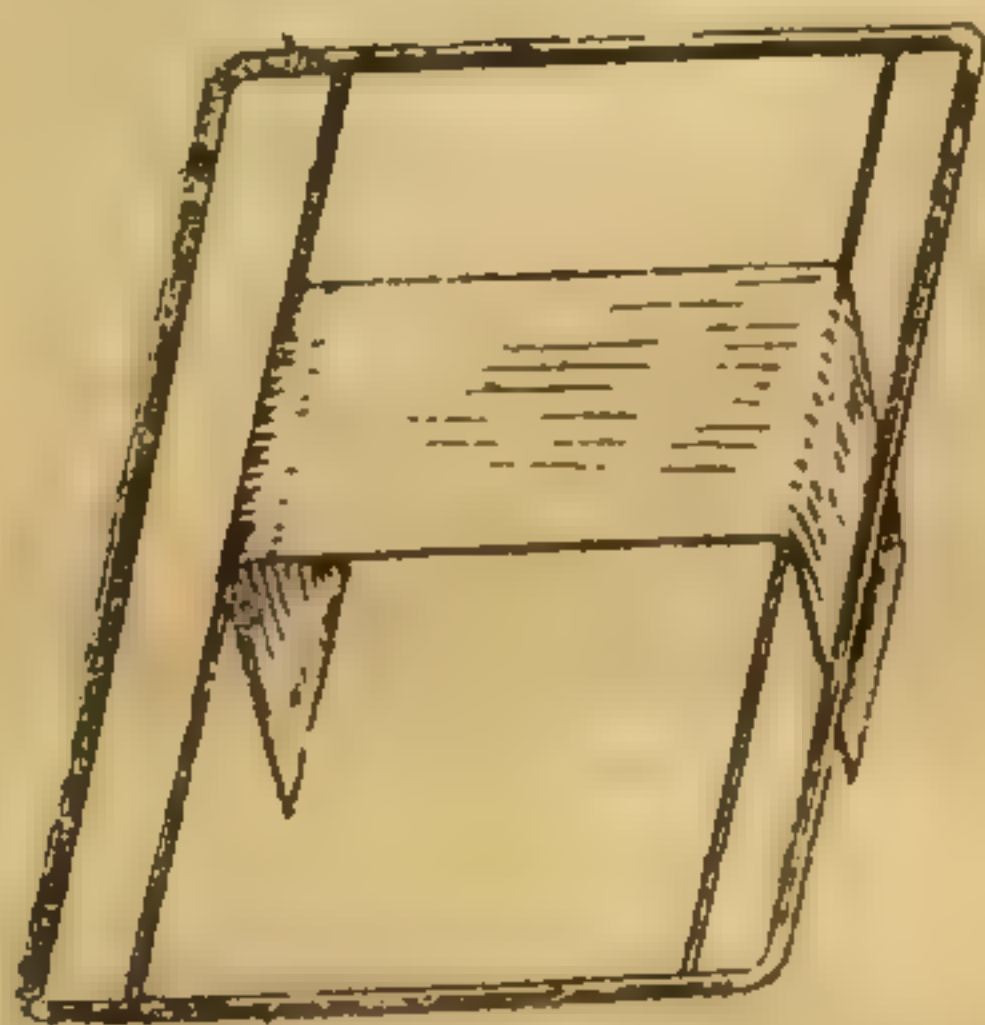


Рис. 51. Стеклянная рамка для подвешивания электрофореграмм

электрофореграммы кладут в развернутом виде. Кюветы необходимо время от времени покачивать.

После окончания окраски электрофореграммы высушивают на воздухе. Дальнейшая обработка ее производится или при помощи денситометра или путем извлечения красителя из бумаги и определения его количества.

Перед обработкой на денситометре ЭФА-1 электрофореграммы пропитывают смесью вазелинового масла с α -бромнафталином (стр. 141) или просто вазелиновым маслом (стр. 141). Пропитывание бумаги смесью необходимо проводить таким образом, чтобы в бумаге не осталось пузырьков воздуха. Для этого бумажную полосу берут за концы и, держа горизонтально, осторожно касаются пропитывающей смеси ее нижней поверхностью. Для освобождения от избытка масла электрофореграммы кладут между листами обычной фильтровальной бумаги.

Удобно проводить промасливание электрофореграммы в специальной ампуле, изображенной на рис. 52. Для этого ампулу укрепляют вертикально и в нижний ее отдел 1 наливают вазелиновое масло. Затем помещают одну или несколько электрофореграмм 2, закрывают ампулу пробкой 3. Через отводную трубку 4 при помощи водоструйного или масляного насоса отсасывают воздух. После создания в ампуле достаточного разряжения закрывают кран 5 и наклоняют ее таким образом, чтобы вазелиновое масло из нижнего отдела переливалось в верхний и пропитало находящиеся там электрофореграммы. Просветленные полосы вставляют в денситометр так, чтобы против щели камеры приходился неокрашенный участок. Перо денситометра устанавливают на нуле, включают протягивающее и записывающее устройство. Записанная денситометром кривая, пример которой приведен на рис. 53, позволяет судить о числе фракций и вычислить соотношение между содержанием белка и его фракций. Для этого кривую делят, как это видно на рис. 53, по минимумам на ряд участков, соответствующих отдельным фракциям. Величина площади каждого участка пропорциональна количеству красителя, соединившемуся с белком данной фракции. Соотношение между этими площадями вычисляют при помощи планиметра или по весу, поскольку вес участков бумаги про-

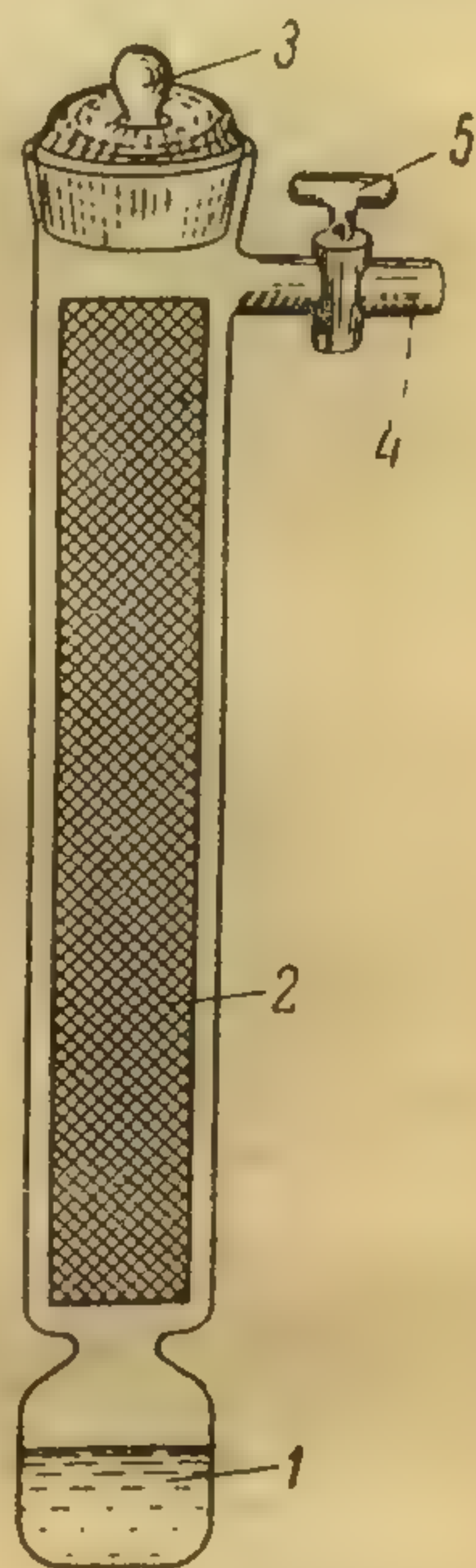


Рис. 52. Ампула для промасливания электрофореграмм

порционален их площади. Последний способ более точен и при использовании торзионных весов менее трудоемок. Электрофореграммы вырезают ножницами и взвешивают, подвесив на крючок торзионных весов. Затем ее разрезают до минимума и

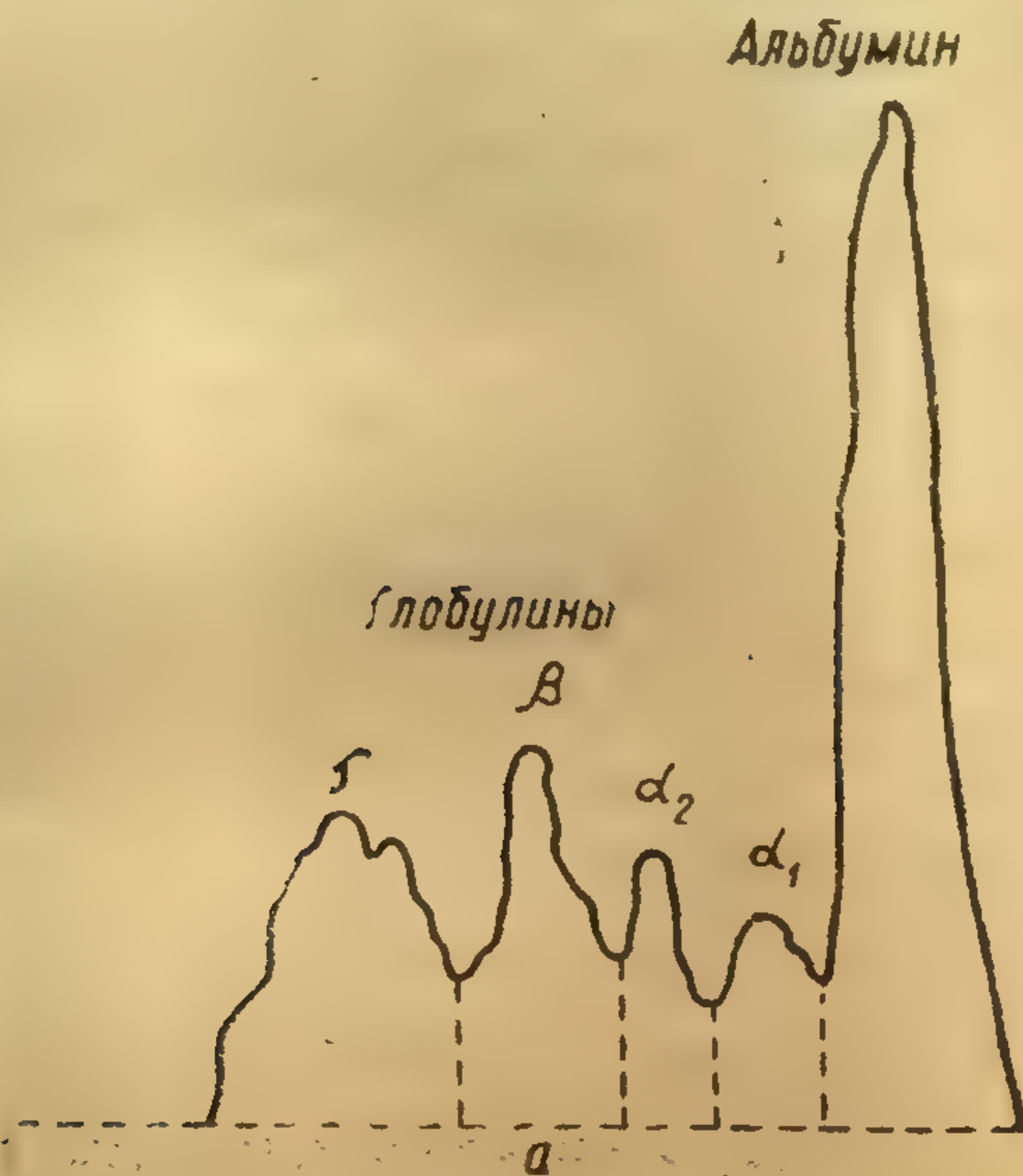


Рис. 53. Кривая содержания белковых фракций, записанная на денситометре

взвешивают каждый отрезок. Общий вес электрофореграммы принимают за 100 и вычисляют, какой процент по отношению к нему составляет вес каждого отрезка.

Фракция	Вес участ- ков, соответ- ствующих этой фрак- ции, мг
Альбумин	229
α₁	22
α₂-глобулин	50
β	61
γ	68
Всего	430

Относительное содержание отдельных фракций:

альбумина: $430-100$
 $229-X$

α₁-глобулина: $430-100$
 $22-X$

Определение
содержания красителя
его количества.
полоски шириной
пробирку. В каж-
да, на котором
либо по 5 мл эк-
ный краситель
запирается или
ация протекает
Окраску жидко-
фильтром при
вых кюветах.

При извлеч-
NaOH окраска
ходимо фотом-
ции. В щелоч-
няется в течен-
На основан-
ления красите-
вую, подобную
ределяют сос-
как и по ден-

Описание
ницы между
можно разре-
шают в отде-
альбуминовом
по 10 мл эк-
пробы служи-
белка. После
моши ступе-
складываю-
или. По-
процент по
проб.

$$X = \frac{229 \cdot 100}{430} = 53,3\%$$

$$X = \frac{22 \cdot 100}{430} = 5\%$$

$$\alpha_2\text{-глобулина } \frac{430-100}{50-X}$$

$$\beta\text{-глобулина } \frac{430-100}{61-X}$$

$$X = \frac{50 \cdot 100}{430} = 11,6\%$$

$$X = \frac{61 \cdot 100}{430} = 14,3\%$$

$$\gamma\text{-глобулина } \frac{430-100}{68-X}$$

$$X = \frac{68 \cdot 100}{430} = 15,8\%$$

Определение соотношения отдельных фракций путем извлечения красителя из бумаги и колориметрического определения его количества. Электрофореграмму разрезают на поперечные полоски шириной по 0,5 см и каждую помещают в отдельную пробирку. В каждую пробирку, в зависимости от типа фотометра, на котором производится определение, добавляют по 1,5 мл либо по 5 мл экстрагирующего раствора. Кислотный сине-черный краситель элюируется 0,1 н. NaOH. Бромфеноловый синий элюируется или 0,01 н NaOH или щелочным метанолом. Элюация протекает при комнатной температуре в течение часа. Окраску жидкости в пробирках фотометрируют с красным фильтром при помощи ступенчатого фотометра в 2-миллиметровых кюветах.

При извлечении бромфенолового синего посредством 0,01 н. NaOH окраска элюата постепенно изменяется и поэтому необходимо фотометрировать пробы сразу после окончания элюации. В щелочном метаноле окраска очень стабильна и не изменяется в течение нескольких дней.

На основании полученных данных строят кривую распределения красителя по длине электрофореграммы и получают кривую, подобную вычерченной денситометром. По этой кривой определяют соотношение отдельных фракций совершенно так же, как и по денситометрической.

Описанный способ весьма трудоемок. В том случае, если границы между фракциями четко видны, то электрофореграмму можно разрезать по ним на 4—5 частей. Каждую часть помещают в отдельную эрленмейеровскую колбочку на 50 мл. К альбуминовому участку добавляют 30 мл, а к глобулиновым — по 10 мл экстрагирующего раствора. В качестве контрольной пробы служит участок электрофореграммы, не содержащий белка. После фотометрирования полученных растворов при помощи ступенчатого фотометра или фотоэлектроколориметра складывают найденные для каждой пробы величины экстинкций. Полученную сумму принимают за 100 и вычисляют, какой процент по отношению к ней составляет экстинкция каждой из проб.

Фракция	Экстинкция	Экстинкция после умноже- ния на 3 вели- чины, найден- ные для альбумина
Альбумин	0,135	0,405
α_1 -глобулин	0,048	0,048
α_2 -глобулин	0,065	0,065
β -глобулин	0,075	0,075
γ -глобулин	0,080	0,080
И т о г о		0,673

Пример: содержание альбумина 0,673—100
0,405—X

$$X = \frac{0,405 \cdot 100}{0,673} = 60\%.$$

Содержание остальных фракций вычисляется подобным же образом.

Разрезание электрофореграммы по фракциям сильно облегчает обработку кривых. Однако подобная обработка неприемлема, если границы между фракциями неясны, кроме того, она не позволяет получить кривую и выявляет лишь соотношение фракций.

При обработке электрофореграмм для определения количества белка в той или иной фракции судят по количеству красителя, соединившегося с ней. Между тем количество красителя, присоединяющегося к одинаковым количествам разных белков, может быть разным. Особенно сильно это выражено при обработке бромфеноловым синим, который окрашивает более интенсивно альбумин, чем глобулины. Поэтому относительное содержание глобулинов, вычисленное по бромфеноловому синему, оказывается заниженным по сравнению с величиной, найденной по методу подвижной границы в приборе Тизеллуса.

Для того чтобы данные этих двух методов совпали, некоторые исследователи предлагают умножать данные, полученные для глобулинов при электрофорезе на бумаге, на соответствующий коэффициент (например, на 1,6 при окраске бромфеноловым синим). Однако этот коэффициент для различных фракций глобулинов, по-видимому, различен, кроме того, он сильно изменяется при различных заболеваниях, зависит от сорта красителя и метода окраски. Поэтому лучше не пользоваться коэффициентами, а результаты сравнивать с данными, полученными при исследовании сыворотки здоровых животных при помощи применяющегося в лаборатории варианта метода электрофореза на бумаге.

ЗООГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОРМОВ

Для организации правильного кормления необходимо знать действие кормов, входящих в состав рационов, на жизнедеятельность и продуктивность животных и птиц, а также на химический состав продуктов животноводства и их доброкачественность.

Составление кормовых рационов для различных видов и групп сельскохозяйственных животных и птиц нужно производить с учетом потребности организма в питательных веществах и химического состава кормов.

Питательность кормов определяется содержанием в них органических, минеральных веществ и витаминов.

Хозяйственная ценность корма выявляется не только показателями химического состава и питательности, но и физическими свойствами его, а также порядком и методами подготовки к скармливанию.

ОТБОР СРЕДНИХ ПРОБ

Важным и основным условием при взятии проб является то, чтобы они были средними и отражали свойства и состав всей партии исследуемого корма.

Сена берут не менее 5 кг из 15—20 различных мест скирды. Образец прессованного сена отбирают из 1—3% кип партии: осторожно снимают проволоку и выделяют по пласту из каждой кипы первой с края, из второй — рядом с крайним, из третьей — следующий пласт и т. д.

Средняя проба должна содержать 25 т непрессованного и 50 т прессованного сена однородной партии.

Пласты или пучки сена, взятые из разных мест, складывают слоями один на другой на брезенте, полиэтиленовой пленке или мешковине и осторожно перемешивают. Случайные примеси (комки земли, навоза, ветки древесных растений, крупные стебли растений), если они нехарактерны для всей партии, отбрасывают. Из различных участков берут не менее 500 г сена для определения ботанического состава. Такое же примерно количество сена, взятого из различных мест образца, берут для лабораторных исследований, упаковывают в бумагу.

Среднюю пробу травы берут, срезая ее в 2—3 местах участка по диагонали. Лучше, когда ее срезают с каждого квадратного метра площади, затем перемешивают и отбирают среднюю пробу. Во время дождя или росы пробу травы брать не рекомендуется.

Жмыхи после осмотра и установления однородности берут из разных мест: одну плитку на каждые 15—20 т. Затем измельчают их на жмыходробилке и отбирают среднюю пробу.

Отобранные пробы упаковывают: грубые и концентрированные корма в мешочки из плотной ткани; барду, жом, меляссу, силос и др. набирают в банки, которые затем плотно закрывают и завязывают пергаментной бумагой; корнеплоды, клубнеплоды и сочные плоды упаковывают в ящики, пересыпают опилками или соломенной резкой.

На пробы составляют опись, в которой указывают название хозяйства, фермы, учреждения или лаборатории, откуда поступают пробы, вид корма и дата его взятия. К образцу прикладывается или прикрепляется бирка-этикетка с указанием содержания.

ОЦЕНКА ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТИ СЕНА

При предварительном исследовании сено осматривают на месте хранения, определяют однородность его, влажность, цвет, запах, время уборки, давность хранения.

Влажность сена достаточно точно можно определить органолептически. Сухое сено (влажностью не более 15—16%) при скручивании в жгут издает треск, рука ощущает его жесткость и не испытывает ощущения влажности или прохлады, при сгибании и разгибании пучок переламывается. Влажное сено (17—20% влаги) при скручивании в пучок не издает никакого звука; при сжимании чувствуется ощущение свежести и прохлады. Сырое сено (20% влаги и более) при скручивании выделяет влагу.

Тюки сырого прессованного сена имеют ржавчину на месте прилегания проволоки, при сбрасывании со скирды или воза не подпрыгивают, а ложатся пластом, при распиливании пилу «заедает».

Цвет нормального убранных сена зеленый; сено с преобладанием злаков имеет сероватый оттенок, а пырейно-житняковое — синевато-желтый. Интенсивно-зеленый цвет характерен для кислых злаков. Бобовое сено серовато-зеленого, люцернового — ярко-зеленого цвета.

Белесый или белесоватый цвет указывает на продолжительное лежание скошенной травы в рядках на солнечном свету, в таком сене потеряны многие легко усвояемые питательные вещества.

Светло-желтый цвет свойствен селу, находившемуся длительное время под дождем.

Ярко-желтый цвет имеет сено, подмокшее при хранении в скирдах, оно обычно с затхлым запахом, иногда в нем обнаруживаются серовато-белые налеты плесени. Темно-желтый, коричневый, черный цвета бывают у испорченного сена, обычно в верхних слоях стога и скирд, так называемое «овершье».

Сухое свежее убранный сено имеет ароматический запах, который в доброкачественном разнотравном сене обуславливается наличием пахучих трав (донника, полыни, душистого колоска и т. д.). При длительном хранении (в течение нескольких лет) запах сена исчезает.

Плесневелое сено имеет запах плесени, согревшееся влажное пахнет печеным хлебом, сгнившее, черное, слизистое имеет землистый, гнилостный запах.

Запах легко определяется, если облить небольшую порцию сена, помещенного в стакан, горячей водой (около 60°). Стакан плотно закрывается стеклом и через 2—3 минуты исследуется запах.

Хорошее прессованное сено имеет запах опилок.

Время уборки сена определяется наличием в нем цветков или семян и по цвету.

Сено, убранный вовремя, в цветочных пленках сохраняет тычинки. Перестоявшее сено имеет созревшие семена, перестоявшее и высохшее на корню обычно бывает светло-желтого цвета с ломкими стеблями без листьев. Сено из отавных трав желтовато-зеленого цвета, содержит обычное количество листьев растений, цветы отсутствуют, нет и запаха.

При определении несъедобной примеси в процентах учитывают: огрубевшие части растений, испорченное сено, сорную примесь. Сорная примесь определяется во взвешенном образце путем встряхивания его над брезентом или плотной бумагой. Отбирают все частицы длиной 2—3 см, остаток просеивают сквозь сито с круглыми отверстиями диаметром 3 мм. Сорную примесь, прошедшую сквозь сито, взвешивают на технических весах и выражают в процентах к весу образца.

В оставшейся части образца сена после выделения сорной примеси определяют ботанический состав, выделяя при этом злаковые, бобовые, прочие съедобные травы, несъедобные, ядо-

витые и вредные травы. Вес отдельных видов трав выражают в процентах к весу образца.

Грубые несъедобные травы

Русские названия	Латинские названия
Бодяк (колючие виды)	Cirsium
Вахта трилистная	Menyanthes trifoliata L.
Зверобой	Hypericum L.
Зюзники	Lycopus L.
Камыши	Scirpus L.
Комочник (татарник колючий)	Onopordon acanthium L.
Льнянка обыкновенная	Linaria vulgaris Mill.
Лук, чеснок	Allium
Мытник	Pedicularis L.
Мхи	Musci
Осока пузырчатая	Carex vesicaria L.
Осока береговая	Carex riparia Curt.
Осока дернистая	Carex caespitosa L.
Осока нитевидная	Carex lasiocarpa Ehrh.
Полынь мелкая, свыше 5%	Artemisia L.
Папоротники	Polypodiaceae.
Таволга вязолистная	Filipendula ulmaria Max.
Чертополох (татарник)	Carduus L.
Щавели	Rumex L.
Хвощи	Equisetum L.

Вредные травы

Бутень	Chaerophyllum temulum L.
Ветреница	Anemone L.
Крестовик Якоба	Senecio Jacobaea L.
Лютики	Ranunculus L.
Омежник, конский укроп	Oenanthe L.
Паслены	Solanum nigrum et dulcamara L.
Хвощ болотный	Equisetum palustre L.
Чистотел большой	Chelidonium majus L.
Ятрышник	Orchis L.

Ядовитые травы

Авран аптечный	Gratiola officinalis L.
Безвременник	Colchicum autumnale L.
Белена	Hyoscyamus niger L.
Белокрыльник	Calla palustris L.
Болиголов крапчатый	Conium maculatum L.
Борец	Aconitum L.
Вех ядовитый	Cicuta virosa L.
Вороний глаз	Paris quadrifolia L.
Горчак (для лошадей)	Centaurea Picris Pall.
Гулявник ядовитый	Sisymbrium toxophillum.
Дурман	Datura stramonium L.
Живокость	Delphinium
Звездчатка	Stellaria
Калужница болотная	Caltha palustris L.

Кокорыш, собачья пет- рушка	<i>Aethusa cynapium</i> L.
Ландыш	<i>Convallaria majalis</i> L.
Мак-самосейка	<i>Papaver rhoeas</i> L.
Молочай	<i>Euphorbia</i> L.
Мордовик	<i>Echinops ritro</i> L.
Наперстянка	<i>Digitalis</i> L.
Плевел опьяняющий	<i>Lolium temulentum</i> L.
Полынь таврическая	<i>Artemisia taurica</i> Willd.
Пролеска	<i>Mercurialis</i> L.
Термопис ланцетовид- ный	<i>Thermopsis lanceolata</i> R.
Чемерица	<i>Veratrum album et nig- rum</i> L.
Чистец однолетний и прямой	<i>Stachys annua et recta</i> L.
Хвощ топяной (для ло- шадей)	<i>Equisetum limosum</i> L.

Определение в сене спорыньи, ржавчины и головни. Спорынья (*Claviceps purpurea*) поражает чаще колоски злаковых растений (козлос безосый, пырей, рожь, пшеница, овес, мятлик и др.). Рожки спорыньи имеют темно-фиолетовую окраску.

Ржавчина (*Russinia*) поражает злаковые и растения других видов. Она имеет вид красных, черных и желтоватых пятен и полос на стеблях, листьях и колосьях растений.

Головня (*Ustilaginales*) поражает колоски и метелки растений: семена превращаются в черную марку с неприятным селедочным запахом массы.

Наличие головни, например, обнаруживается при растирании ладонями небольшого пучка сена; пачкает руки черной пылью.

Оценка качества соломы производится так же, как и сена, такой же порядок и отбора проб для анализа. Пшеничная, ржаная и овсяная солома хорошего качества, имеет желтый цвет, узлы светло-бурые.

В яровой соломе иногда встречаются вредные и ядовитые травы: в нечерноземной полосе — плевел, звездчатка, тысячелов; в черноземной полосе — куколь, молочай; на юго-востоке — мышей сизый, белена; в Средней Азии — горчак белоцветковый.

Непригодны для скармливания животным сено и солома, содержащие больше 1% по весу вредных и ядовитых растений, пораженные ржавчиной, имеющие свыше 10% по весу плесневелого, гнилого и сильно загрязненного илом или песком корма, и если при отборе проб в одном месте обнаруживается больше 0,2 кг ядовитых трав.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КОРНЕКЛУБНЕПЛОДОВ

При оценке корнеплодов и картофеля из кучи или буртов в зависимости от общего количества берется проба в различных местах весом 100—200 кг. Корни и клубни разделяются по вели-

чине: крупные, средние и мелкие. Каждая кучка корней взвешивается и вес их выражается в процентах к общему весу пробы. Для средней пробы берут 10 кг разных по величине корней или клубней — в зависимости от их весового соотношения в партии корма. Если, например, мелких корней 20, средних 40 и крупных 40 кг, то в среднюю пробу берут по 4 кг средних и крупных корней и 2 кг мелких.

В лаборатории корни или клубни очищают от грязи, промывают водой и обтирают полотенцем. Затем каждый корень разрезают в продольном направлении. Одна из половинок разрезается по сердцевине вдоль на 4 части и из каждой части берется доля для анализа, остальные половинки, четверти и восьмые удаляются.

ОЦЕНКА ЗЕРНОВЫХ И МУЧНИСТЫХ КОРМОВ

Определение качества зерна, комбикормов и жмыхов производится сначала на месте их хранения: устанавливают правильность и продолжительность хранения, однородность, цвет, запах, вкус, влажность.

Свежее зерно имеет характерный блеск пленок. Матовость, пятнистость окраски, потемнение верхушек указывают на плохую уборку, хранение и развитие плесеней. При заражении зерна вредителями наблюдается потускнение его оболочки.

При длительном хранении в зерне развиваются гнилостные бактерии, битые зерна приобретают амбарный запах, который легко устраняется проветриванием и перелопачиванием. Если гнилостные микробы глубоко проникают в зерно и там развиваются, оно приобретает затхлый, гнилостный запах, не исчезающий длительное время даже при проветривании.

При наличии в зерне спор головни появляется селедочный запах, обусловливаемый образованием триметиламина. При порче зерна мышами появляется «мышинный» запах.

Свежее зерно имеет молочносладковатый вкус, а долго хранившееся — горьковатый. Зерно с острым, едким и гнилостным вкусом непригодно к скармливанию животным.

Запах определяется после согревания дыханием слоя зерна, насыпанного на ладонь. Можно определить запах, если зерно поместить в стакан с водой, температура которой 60°, выдержать 2—3 минуты под стеклом, а затем слить воду.

Нормальное зерно имеет своеобразный запах, который появляется в процессе созревания и надлежащего хранения. В нем образуются ароматические вещества. Зерно, как и другие концентраты, легко воспринимает различные запахи, поэтому хранить его нужно отдельно от пахучих веществ.

Различают зерно сухое, средней сухости, влажное и сырое, что нетрудно определить органолептически. Сухое зерно при раскусывании крошится, а сырое плющится. При разрезании сухого зерна ножом (влажность не выше 15%) половинки его

отскакивают одна от другой, при разрезании влажного зерна половинки остаются на месте. По влажности зерно делят на четыре группы (%):

Состояние	Пшеница, рожь, ячмень, гречиха	Овес, кукуруза	Просо
Сухое	до 14 включительно	до 14 включительно	до 13,5 включительно
Среднесухое	до 15,5 включительно	до 16 включительно	до 15 включительно
Влажное	до 17 включительно	до 18 включительно	до 17 включительно
Сырое	свыше 17	свыше 18	свыше 17

Для оценки небольшого количества зерновых кормов пробу из них берут рукой в разных местах. Пробу помещают в мешок, хорошо перемешивают и из нее берут около 2 кг для анализа.

Определение натуры зерна и его засоренности

Натура зерна — вес одного литра его в граммах. Чем выше натура зерна, тем меньше в нем сорной примеси. Натура зерна определяется с помощью пурки, ориентировочно можно определять и без пурки. Для этого берут сосуд емкостью 1—0,5 л, взвешивают его с точностью до 1 г пустым и с водой, налитой до самого верха, но без мениска над краем. Разница в весе сосуда пустого и с водой (в граммах) и есть емкость сосуда в миллилитрах.

Натура зерна определяется пропорцией:

$$X : A = 1000 : B,$$

где X — искомая натура зерна в литре;

A — вес зерна в объеме сосуда, г;

B — емкость сосуда, мл.

$$X = \frac{A \cdot 1000}{B}.$$

Натура зерна основных культур (г/л)

	Колебания натуры	Средняя натура
Пшеница	700—800	750
Рожь	650—750	700
Ячмень	500—650	600
Овес	380—520	450

Засоренность зерна определяется в процентах к навеске. В этих целях пробу зерна в 50—100 г рассыпают на бумагу и отделяют семена других культурных злаков, сорных и ядовитых растений, мякину, частички соломы, листочки, стебли, колосья и минеральную примесь — землю, песок, пыль.

По стандарту различают примесь сорную, вредную и зерновую. К сорной примеси относятся: минеральная примесь, семена дикорастущих растений, солома, мякина; к вредным — головня, куколка, спорынья, вязель, плевел опьяняющий и зерна злаков, испорченные плесенью. К зерновой примеси относятся целые зерна других культур и поврежденные зерна основной культуры.

Степень зараженности зерна амбарными вредителями определяют в предварительно взвешенной пробе, которую просеивают через сито с круглыми отверстиями в 1,5 мм. В части зерна, прошедшего через сито, подсчитывается количество амбарных вредителей.

Чтобы выявить всех клещей, зерно нужно нагревать 15 минут при температуре 15—20°, после чего просеять через сито и высыпать тонким слоем на стекло или черную бумагу и с помощью лупы подсчитать количество клещей.

Пораженность зерна определяется степенью его зараженности.

Зараженность зерна долгоносиком:

- I степень зараженности — не более 5 насекомых в 1 кг
- II степень зараженности — до 10 насекомых в 1 кг
- III степень зараженности — больше 10 насекомых в 1 кг.

Зараженность клещом:

- I степень зараженности — не более 20 клещей в 1 кг
- II степень зараженности — больше 20 клещей в 1 кг
- III степень зараженности — на сите образуется слой клещей.

Зерно считается недоброкачественным, если в нем содержится сорной примеси более 8%, в том числе плевела, куколки, головни, вязаля, горчака более 2%, загнивших, проросших зерен вместе с сорной примесью более 15%, при затхлом запахе, зараженности амбарными вредителями (клещом и долгоносиком) во 2-й и 3-й степени.

Определение пленчатости и абсолютного веса зерна

Пленчатость зерна характеризует его полновесность. Она определяется так. Из отобранной средней пробы берут 100 зерен и помещают в стакан с водой. Полновесные зерна опустятся на дно стакана; зерна, имеющие меньший вес, будут находиться в середине водяного столба. Недозревшие, щуплые зерна и оболочки их — пленки будут на поверхности воды. Вес зерен выражается в процентах к весу пробы зерна.

Питательная ценность зерна зависит от степени их пленчатости. Вес пленок зерна овса к весу его ядра составляет от 21 до 46%, ячменя — от 6 до 11%. Пленки от ядра отделяют лабораторной иглой и пинцетом.

Абсолютный вес определяется по весу 1000 зерен, взятых из средней пробы, после установления степени засоренности ее.

Небольшую пробу зерна наносят тонким слоем в виде квадрата на стекло и разделяют по диагонали на 4 треугольника, из каждого треугольника отсчитывают 250 зерен, а всего 1000, и взвешивают. Чем выше абсолютный вес зерна, тем выше его питательность. Абсолютный вес зерна, например овса высшего сорта, равен 33 г и выше, среднего — 28—32, низшего — 25—28 г.

Определение кислотности и свежести зерновых кормов

Из средних проб берут навески по 5 г хорошо измельченного корма и помещают в колбы емкостью 100—150 мл, добавляют по 50 мл дистиллированной воды, хорошо взбалтывают, оставляют на 30 минут. Затем в колбу добавляют по 5 капель 1%-ного раствора фенолфталеина и титруют из бюретки 0,1 н раствором NaOH до появления не исчезающей в течение 1—2 минут бледно-розовой окраски.

Кислотность в градусах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 100}{10 \cdot a} \cdot K,$$

где V — объем 0,1 н раствора NaOH, пошедший на титрование, мл;

100 — для вычисления кислот в 100 г корма;

a — навеска корма, г;

10 — для приведения 0,1 н раствора NaOH к 1 н раствору;

K — поправочный коэффициент к титру 0,1 н раствора NaOH.

Кислотность зерновых кормов не должна быть выше 5°. При порче зерна и распаде его органического вещества образуются свободные кислоты, наличием которых и определяется свежесть зерна:

3,5 — 4,5° кислотности определяют начало процесса порчи;

5,5° — зерно плохо сохраняется;

7,5° — зерно не выдерживает хранения;

9,5° — испорченное зерно.

Свежесть мучнистых кормов определяется воздействием на навеску муки едкого натра и серной кислоты.

Два грамма навески муки помещают в колбу, прибавляют 5 мл 10%-ного раствора NaOH или KOH, слегка подогревают и по каплям прибавляют H_2SO_4 (1 : 2). Свежая мука имеет запах клейстера, испорченная — сероводорода.

Реактивы. 1. 10 г кристаллического NaOH (или KOH) растворяют в 90 мл воды.

2. На 10 частей H_2SO_4 (уд. вес 1,84) берут 20 частей воды (1 : 2).

3. 1 г фенолфталеина растворяют в 100 мл 50%-ного раствора спирта.

4. 0,1 н раствора NaOH.

Степень чистоты мучных кормов определяют в навеске 50—100 г, которую ровным слоем насыпают на лист бумаги или стекло и выделяют металлические примеси, семена сорных и ядовитых растений, споры головни и т. д. Взвешиванием указанных примесей находят их процентное содержание.

Определение минеральной примеси производится с помощью стеклянного цилиндра емкостью 200—250 мл с краном внизу и притертой пробкой.

Ход определения. 45 г мучнистого корма помещают в цилиндр, вливают в него 50 мл хлороформа (уд. вес 1,48), хорошо взбалтывают и оставляют на 5 минут.

Минеральные примеси, как более тяжелые, выпадают в углубленную часть крана. Поворотом крана на 90° жидкость из цилиндра и растворенные в ней органические вещества выливают на фильтр в воронку, а минеральные примеси, в том числе и песок, остаются в углублении крана.

Затем вынимают кран с осадком, удаляют минеральную примесь, обливают 10%-ным раствором соляной кислоты для растворения осевших органических веществ корма. Полученный остаток переносят на беззольный фильтр, фильтр с остатком промывают дистиллированной водой и помещают в прокаленный и взвешенный тигель и сжигают в муфельной печи. Сожженный минеральный остаток охлаждают в эксикаторе, взвешивают и вычисляют процент примеси.

Минеральных примесей в мучнистых кормах не должно быть более 0,8%, спорыньи или головни — не более 0,06%, куколя — не более 0,25% по весу, в них не должно быть амбарных вредителей. Влажность не выше 15—16%.

Определение спорыньи. Берут 1 г хорошо размолотого образца зерна, размером в 1 мм, помещают в бактериологическую пробирку; в нее вливают 7 мл хлороформа (уд. вес 1,48) и 2 мл 95%-ного этилового спирта.

После 2—3-часового отстаивания подсчитывают число всплывших наверх частичек черного или темно-серого цвета.

Содержание спорыньи (%)	Количество всплывших частиц
до 1,0	30
до 0,5	15—18
до 0,25	8—10
до 0,12	4—6
до 0,06	2—3
меньше 0,06	единицы

Всплывшие частицы проверяют в капле глицерина под микроскопом при увеличении в 100—300 раз. Для спорыньи характерно сплетение грибных нитей.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖМЫХОВ И ШРОТОВ

Питательность и качество жмыхов и шротов зависит от вида масличных культур, способа их производства, условий хранения, влажности и от наличия примесей.

Запах и свежесть определяют после выдерживания в течение суток смоченных водой (35—40°) небольших порций корма. Неприятный запах указывает на порчу жмыха или шрота, при хранении они нередко покрываются плесенью.

Примеси песка в жмыхах и шроте определяются так же, как в зерновых и мучнистых кормах.

Некоторые виды жмыхов и шротов содержат ядовитые и летучие горькие вещества, которые также необходимо определять.

Льняные жмыхи определяют пробой на ослизнение. Чайную ложку измельченных в муку жмыхов помещают в стаканчик, в который добавляют 10-кратное количество горячей воды, хорошо перемешивают и дают постоять. Доброкачественные жмыхи в таком случае образуют студенистую массу с приятным запахом.

Жмыхи из семян крестоцветных (рапсовый, сурепковый и другие) содержат горчичное масло, поэтому в них нужно определять наличие масел. Для этого небольшое количество измельченных жмыхов замешивают в стакан с водой, нагретой до 70—75° до состояния жидкой кашицы. Стакан закрывают стеклом. Если через 20 минут обнаруживается резкий горчичный запах, то скармливать животным такие жмыхи нужно осторожно и в небольших количествах.

В хлопчатниковом жмыхе содержится госсипол, который определяется подсчетом под микроскопом количества железок семян хлопчатника, содержащих госсипол. Для определения берут 10 мг измельченных жмыхов, навеску помещают на 3 предметных стеклах и на каждую часть навески наносят по одной капле концентрированной серной кислоты, хорошо перемешивают стеклянной палочкой. Покрывают покровным стеклом и смотрят под микроскопом при малом увеличении. Подсчитывают круглые или овальные черные железки, из которых вытекает красноватая жидкость, или вокруг которых видна ярко-красная окраска, а также круглые ало-красные пятна с едва заметными остатками оболочек клеток.

Процентное содержание госсипола вычисляют по формуле:

$$x = \frac{a}{b} \cdot 0,085,$$

где a — количество окрашенных точек во всех препаратах;
 b — величина навески, мг;
 0,085 — постоянный коэффициент.

В жмыхах и шротах не должно содержаться госсипола более 0,1—0,2%.

Не допускаются к скармливанию животным жмыхи и шроты плесневелые, гнилые, а также с резким горьким вкусом и запахом.

Ограниченно годные корма необходимо к скармливанию соответствующим образом подготавливать.

ХРАНЕНИЕ, КОНСЕРВИРОВАНИЕ ПРОБ КОРМОВ И ИХ ИЗМЕЛЬЧЕНИЕ

Пробы, доставленные в лабораторию, следует исследовать сразу, особенно скоропортящиеся корма

Если возникает необходимость продолжительного хранения, например, кормовой муки, комбикормов, кормов, богатых жиром, то сначала надо определить в них содержание каротина, первоначальную влажность, а затем высушить при температуре 60—65°, измельчить и поместить в стеклянные банки с притертыми пробками.

Средние пробы корнеплодов и картофеля не менее 100 г каждая нарезают ломтиками толщиной не более 0,5 см, взвешивают и нанизывают на нитку или тонкую проволоку, так чтобы ломтики не прикасались друг к другу. Затем их подвешивают в горизонтальном положении и подсушивают в течение 2—3 дней, после чего высушивают в сушильном шкафу.

Для предохранения органических веществ от окисления в сочных кормах и более точных анализов необходимо предварительное подсушивание и окончательное досушивание в вакуумных сушильных шкафах при невысокой температуре.

Рекомендуется пробы кормов хранить также на холоде, от 0 до +2°.

Большинство кормов однородны по своему составу, что облегчает взятие средней пробы. Но в таких продуктах, как кормовая мука, зерно, шроты, однородность состава может быть нарушена. Так, при насыпании в банку мука может расслоиться на мелкие частицы эндосперма и более крупные — отруби.

Чтобы получить более достоверные результаты, пробу перед анализом нужно хорошо перемешать.

Для исследования корма должны быть измельчены до не-
 большого размера частиц, в муку тонкого помола. При измельчении твердых веществ применяют стеблerezки-мельницы различных конструкций. Весьма распространена лабораторная мельница Эксельснор и ручная — для зерна — типа кофейной мельницы.

Меры обезвреживания вредных веществ в кормах (по А. П. Дмитренко)

Примечание: средние пробы	Способ разрушения вредного вещества	Действие вредного вещества на организм	Название вредного вещества	Корма	Описание и наименование

Меры обезвреживания вредных веществ в кормах (по А. П. Дмитроченко)

Корма	Название вредного вещества	Действие вредного вещества на организм	Способ разрушения вредного вещества	Пищевые средства противодействия
Жмыхи хлопчатниковые	Госсипол	Снижение потребления корма и общее заболевание	Окисление и нагревание	Неизвестно
Жмыхи льняные	Цианглюкоза, линомарин	Способствует удалению из корма пиридоксина	Замачивание в течение 24 часов	Увеличенная дача пиридоксина
Бобы сои	Антитрипсин	Инактивирует трипсин и вызывает гипертрофию поджелудочной железы	Нагревание	Неизвестно
Жмыхи рапсовые	Горчичное масло	Большие количества горчичного масла более 0,5% вызывают отравления	Неизвестно	Введение тироксина или йодказеина
Картофель	Неизвестно	Препятствует перевариванию крахмала	Нагревание	Неизвестно
Ботва свеклы	Щавелевая кислота	Препятствует усвоению кальция	Неизвестно	Увеличение дачи кальция
Зерно горького люпина	Алкалоиды	—	Вымачивание	—

Для более тонкого измельчения материалов, особенно богатых клетчаткой, применяется терка-мельница Дрефса; она дает продукт, проходящий через шелковое сито с отверстиями в 0,25 мм.

Для измельчения и одновременного перемешивания мягких и вязких веществ применяют мясорубки.

Нами в СибНИВИ сконструирована лабораторная машина, которая режет грубые корма и измельчает в муку высушенные пробы. Она настольная и монтируется на специальной плите-столе, на котором размещаются механизмы и узлы: соломорезка с механизмом подачи, мельница с механизмом подачи, приводной редуктор, бункерные устройства, электромотор.

Машина работает от электродвигателя мощностью 0,6 квт, 220 в. Включение каждого агрегата производится посредством муфточек, находящихся на концах вала червячной шестерни, путем перемещения их рычажками до полного вхождения ведущих шпилек, укрепленных на валу, в пазы муфточки.

Длина соломенной и сенной резки получается 1,5—2 см, производительность в час — 3—4 кг воздушно-сухой массы. Тонкость помола сухого зерна и сухой сенной резки регулируется регулировочным винтом и удовлетворяет сити № 27, что соответствует второму сорту муки, производительность — 4,5—5 кг в час.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТИ СИЛОСА

Отбор проб силоса для анализа. В зависимости от типа силосных сооружений образцы берут различными способами.

Из башни берется три образца на различной глубине силосного слоя: первый — 1,5 м от верха, второй — из середины, третий — на высоте 1—1,5 м от дна. Их отбирают с горизонтальной поверхности из разных мест, отступая на 50—60 см от краев буртов, курганов и стен сооружений.

Пробы силоса помещают в банки с плотно закрываемыми пробками. На дно банки, в середину массы и сверху вносят хлороформ или смесь хлороформа и толуола из расчета 5 мл на 1 кг силоса.

При осмотре корма на месте необходимо обращать внимание на органолептические признаки: цвет, запах, вкус, структуру засилосованных растений.

Цвет. Буроватый и зеленовато-желтый цвет характерен каждому виду силосуемых растений, он зависит от образования хлорофилла, не содержащего молекулы магния.

Доброкачественный силос в зависимости от вида растений может иметь цвет коричнево-зеленый, светло-коричневый и желтоватый.

При порче силоса изменяется цвет, сначала появляется матовый оттенок, а затем преобладают темные тона: коричневый, темно-коричневый и грязномутный.

Запах. В силосованном корме при брожении появляется специфический запах плодов, свежее испеченного черного хлеба, хлебного кваса, моченых яблок.

При порче появляется запах уксуса и масляной кислоты, редьки, прогорклого масла. Масляная кислота узнается по появлению при растирании между пальцами частиц засилосованных растений острого неприятного запаха, подобного запаху навоза.

Вкус. Доброкачественный силос имеет слабокислый или кислый приятный вкус. Силос низкого качества и имеющий различной степени порчу обычно бывает резко кислый, нередко с горьковатым и щиплющим привкусом.

Консистенция. Доброкачественный силос сохраняет структуру и консистенцию засилосованных растений. Листочки растений в силосе должны быть эластичными и легко отделяться.

Качество силоса можно оценить, придерживаясь схемы, описанной А. А. Зубрилиным, которая приводится в несколько измененном виде.

Лабораторные исследования силоса

Проба на гниение. В силосе могут развиваться процессы гниения. Вещества, содержащие азот, при этом разлагаются до образования свободного аммиака.

Свободный аммиак определяют следующим образом. В широкую пробирку наливают 1—2 мл реактива, состоящего из 1 части крепкой соляной кислоты (уд. вес 1,19), 3 частей 96%-ного спирта и 1 части эфира. Этот реактив можно использовать многократно. На загнутую проволочку прикрепляют кусочек исследуемого силоса и опускают в пробирку на расстояние 2 см от поверхности реактива. При наличии свободного аммиака около силоса появляется облачко или беловатый туман из хлористого аммония, что хорошо заметно на свету.

Аммиачные соединения можно определить и в водной вытяжке. Для этого 100 г мелко нарезанного силоса помещают в калиброванную литровую колбу, в нее вливают до $\frac{3}{4}$ объема дистиллированной воды, хорошо перемешивают взбалтыванием и доливают водой до метки. Колбу оставляют на 4—5 часов при температуре 20—25°, периодически встряхивая. Затем водное извлечение отфильтровывают и используют для анализов. К 10 мл фильтрата добавляют 10 капель реактива; раствор йодистой ртути в йодистом калии (как при исследовании воды). Появление ярко-желтого или оранжевого окрашивания и выпадение красноватого осадка указывает на наличие аммиачных соединений.

Качественная оценка силоса (по А. Зурбину)

Запах	Цвет	Предполагаемая кислотность (рН) по запаху и цвету силоса	Оценка
Фруктовый, быстро исчезающий при растирании пробы силоса в руках	Желтовато-зеленый (оливковый)	Не выше 4,2. Преобладает молочная кислота	Отличный
То же, но менее выраженный	Преобладает желтый цвет	Ниже 4,0. Избыток молочной кислоты	Хороший, не пере-кисленный
Фруктовый, с оттенком запаха меда	Серовато-зеленый	4,2. Умеренно-кислый	Хороший
Хорошо выраженный запах ржаного хлеба	Темно-коричневый	4,2 и выше. Слабокислый	Удовлетворительный
Резкий запах уксусной кислоты, исчезающий, но не бесследно	Преобладает зеленый цвет	4,4—4,5. Много уксусной кислоты	Малоудовлетворительный, плохо поедаемый
Едкий, аммиачный (навозный), с оттенком запаха селедки	Зеленый цвет	Не ниже 4,8—5,0. Содержится масляная кислота	Плохой, допускается скормливать с предосторожностями
Очень неприятный, не исчезающий, гнилостный	Грязно-зеленый	6,0—7,0 и выше. Содержится много продуктов гниения	Испорченный, несъедобный

Загрязненный
экскрементами
рыбы и соевых
Хлориды 35,0
каплями 35,0
раствора на 100
завязет на 100
Соли серной
та 5 каплями 10
10 каплями 10
солей серной 10

100 мл ф
колку и при
фенолфталеин
Титруют 1
ность силоса
няется 1 мл н
нейтрализации
Определен
содержаться
ляной кислот
100 мл филь
ределения об
объема 10—1
но столько ж
лоты, сколько
шей кислотн
с притертой
хлористой
нейтрального
когда в те
зования эм
прозрачног
вают в сух
стойки и на
дне слою.
При наг
ка окрашив
Для кол
же вернуто
20 мл и пер
ченной пер
ным дисст
порозово
выпадает
стывает в
0,008

Загрязненность силосованного корма. При загрязнении экскрементами животных в силосе обычно обнаруживаются хлориды и соли серной кислоты.

Хлориды определяют подкислением 10 мл фильтрата 3—5 каплями азотной кислоты и прибавлением 10 капель 5%-ного раствора азотнокислого серебра. Появление белого осадка указывает на наличие хлоридов.

Соли серной кислоты определяют, подкисляя 10 мл фильтрата 5 каплями разведенной 1:3 соляной кислоты и прибавляя 10 капель 10%-ного раствора хлористого бария. При наличии солей серной кислоты появляется белая муть.

Общая кислотность силоса

100 мл фильтрата силоса помещают в 250-миллилитровую колбу и прибавляют 5 капель 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина.

Титруют нормальным раствором NaOH или KOH . Кислотность силоса выражают в градусах, учитывая, что 1 градус равняется 1 мл нормального раствора щелочи, использованного на нейтрализацию водного извлечения из 100 г силоса.

Определение масляной кислоты. В хорошем силосе не должно содержаться масляной кислоты. Качественное определение масляной кислоты можно произвести по такой доступной методике. 100 мл фильтрата (нейтрализованного), оставшегося после определения общей кислотности, выпаривают в водяной бане до объема 10—15 мл. К сгущенному фильтрату добавляют примерно столько же миллилитров нормального раствора соляной кислоты, сколько было израсходовано щелочи при определении общей кислотности, затем жидкость переливают в узкий цилиндр с притертой пробкой, прибавляют 10 мл насыщенного раствора хлористого кальция с хлористым калием и 40 мл прозрачного нейтрального керосина. Эту смесь осторожным покачиванием колбы в течение 10—15 минут взбалтывают, не допуская образования эмульсии. Затем смесь отстаивается, и из ее верхнего прозрачного слоя берут пипеткой несколько миллилитров, вливают в сухую пробирку, приливают 10 капель лакмусовой настойки и наблюдают за изменением цвета по появившемуся на дне слою.

При наличии в силосе масляной кислоты лакмусовая настойка окрашивается в красноватый цвет.

Для количественного определения масляной кислоты из того же верхнего прозрачного слоя градуированной пипеткой берут 20 мл и переносят в сухую колбу, прибавляя 100 мл прокипяченной дистиллированной воды, взбалтывают и титруют 0,1%-ным раствором едкого бария при индикаторе фенолфталеине до порозовения. Образующийся маслянокислый барий при этом выпадает в осадок. 1 мл 0,1%-ного раствора $\text{Ba}(\text{OH})_2$ соответствует 0,0088 г масляной кислоты.

Для определения масляной кислоты в 100 г силоса пользуются формулой:

$$X = \frac{a \cdot b \cdot 10 \cdot 0,0088}{20},$$

где X — содержание масляной кислоты в 100 г силоса, г;
 a — количество 0,1%-ного раствора $\text{Ba}(\text{OH})_2$, израсходованного на титрование 20 мл смеси-отстоя, мл;
 b — объем смеси фильтрата, раствора калия, кальция и керосина.

Определение органических кислот в силосе (по Вигнеру)

Принцип метода. Для оценки качества силоса большое значение имеет количественное соотношение содержащихся в нем молочной, уксусной и масляной кислот. Сущность состоит в том, что при отгонке водной вытяжки силоса до половины объема из каждой содержащейся в ней кислоты в дистиллят переходит определенное количество. Общая свободная кислотность определяется титрованием отдельно взятого объема водной вытяжки силоса. Чтобы определить связанные органические кислоты, в перегонную колбу помещают определенный объем водной вытяжки, прибавляют концентрированную серную кислоту и производят отгонку так же, как при определении свободных кислот. Серная кислота вытесняет уксусную и масляную кислоты из их соединений, и они отгоняются с парами воды вместе со свободными кислотами. Перешедшие в дистиллят кислоты титруются раствором щелочи, а затем их содержание рассчитывается по указанной ниже схеме вычислений.

Ход определения

А. Подготовка силоса к анализу и получение водной вытяжки

100 г мелко нарезанного силоса помещают в мерную колбу на 1 л, прибавляют до метки дистиллированной воды (предварительно прокипяченной в течение 20 минут и доведенной до комнатной температуры) и тщательно перемешивают. Для консервирования вытяжки в колбу прибавляют 0,5 мл толуола или хлороформа (можно и 40%-ного формалина). Колбу оставляют стоять в течение 12—24 часов; если необходимо, снова доливают до метки дистиллированной водой и фильтруют через обычный бумажный фильтр (желательно складчатый).

Б. Определение общей свободной кислотности

В две конические колбы емкостью 200—250 мл пипеткой берут по 50 мл водной вытяжки силоса, добавляют по 3—5 капель фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором едкого натра до по-

явления розовой окраски, не исчезающей в течение одной минуты. Если вытяжка имеет темную окраску, титровать приходится по лакмусу (до появления синего ореола на лакмусовой бумажке).

Из полученных данных берут среднее значение объема 0,1 н NaOH, умножают его на 2, на поправку к титру K и получают величину X_0 , используемую в последующих расчетах:

$$X_0 = Y_{\text{ср}} \cdot 2 \cdot K$$

В. Определение свободных кислот

В колбу емкостью 500—750 мл берут 200 мл водной вытяжки силоса и отгоняют 100 мл дистиллята. В слегка остывшую колбу прибавляют 100 мл дистиллированной воды и снова отгоняют 100 мл дистиллята в другую колбу. Затем снова добавляют 100 мл дистиллированной воды и в третий раз отгоняют 100 мл дистиллята в отдельную колбу. Полученные три дистиллята по очереди титруют 0,1 н раствором едкого натра в присутствии 3—5 капель фенолфталеина до не исчезающей в течение одной минуты розовой окраски. Израсходованные при этом объемы 0,1 н NaOH умножают на 2, на поправку к титру щелочи K и получают величины:

$$X_1 = V_1 \cdot 2 \cdot K \text{ (для первого дистиллята);}$$

$$X_2 = V_2 \cdot 2 \cdot K \text{ (» второго »);}$$

$$X_3 = V_3 \cdot 2 \cdot K \text{ (» третьего »).}$$

Расчетные формулы составлены для 0,05 н раствора NaOH. Поскольку титрование производится 0,1 н NaOH, объемы необходимо умножать на 2.

Г. Определение суммы свободных и связанных кислот

В перегонную колбу берут 200 мл водной вытяжки силоса, прибавляют 5 мл концентрированной серной кислоты (уд. веса 1,84) и отгоняют по 100 мл дистиллята так, как это было описано в случае определения свободных органических кислот. Израсходованные объемы 0,1 н NaOH умножают на 2, на поправку к титру едкого натра и получают величины Y_1 , Y_2 , Y_3 , которые служат для расчета суммарного содержания кислот в силосе:

$$Y_1 = V_1 \times 2 \times K \text{ (для первого дистиллята);}$$

$$Y_2 = V_2 \times 2 \times K \text{ (» второго »);}$$

$$Y_3 = V_3 \times 2 \times K \text{ (» третьего »).}$$

Д. Расчетные формулы для вычисления содержания кислот в силосе (расчетные данные выражаются в процентах)

1. Количество свободной уксусной кислоты:

$$0,05943 (X_2 + X_3) - 0,02059 X_1 = a.$$

2. Количество свободной масляной кислоты:

$$0,04541 X_1 - 0,043824 (X_2 + X_3) = b.$$

3. Сумма свободной и связанной уксусной кислоты:

$$0,05943 (Y_2 + Y_3) - 0,02059 Y_1 = c.$$

4. Содержание связанной уксусной кислоты:

$$c - a.$$

5. Сумма свободной и связанной масляной кислоты:

$$0,04541 Y_1 - 0,043824 (Y_2 + Y_3) = k.$$

6. Содержание связанной масляной кислоты:

$$k - b.$$

7. Вспомогательные расчеты для молочной кислоты:

1) $3,9620 (X_2 + X_3) - 1,3724 X_1 = m.$

2) $2,0641 X_1 - 1,9920 (X_2 + X_3) = n.$

3) сумма: $m + n.$

8. Количество молочной кислоты:

$$0,09X_0 - 0,0225 (m + n) = p.$$

9. Общее содержание кислот (свободных и связанных):

$$c + k + p = A\%$$

Примечание. Если при расчетах количеств уксусной и масляной кислот по формулам (1 и 2) получается результат со знаком минус, это указывает на отсутствие одной из кислот. В этом случае результат считается равным нулю. Это же самое относится и к вспомогательным расчетам для молочной кислоты.

Оценка качества силоса по соотношению молочной, уксусной и масляной кислот

Качество силоса	рН	Молочная кислота	Уксусная кислота		Масляная кислота	
			свобод. (%)	связан. (%)	свобод. (%)	связан. (%)
Хорошее	4,0—4,2	1,5—1,6	0,4—0,5	0,2—0,3	0	0
Среднее	4,3—4,6	0,9—1,0	0,6—0,7	0,4—0,5	0	0,1—0,15
Плохое	4,7—5,0	0,2—0,3	0,2—0,3	0,6—0,7	0,2—0,4	0,6—0,7

Пример. При анализе силоса на титрование 50 мл водной вытяжки (в двух повторениях) в среднем было израсходовано 10,0 мл 0,1 н раствора едкого натра. При титровании дистиллятов, полученных при отгонке свободных кислот, было израсходовано 8,9; 6,0; 4,2 мл 0,1 н NaOH. На титрование дистиллятов, полученных при отгонке суммы кислот (свободных и связанных), было израсходовано 14,3; 8,5; 5,1 мл 0,1 н NaOH. Поправка к титру для 0,1 н NaOH равна 0,822. Рассчитать содержание кислот и дать оценку качества силоса.

Расчеты

Величина, вычисляемая при определении общей свободной кислотности, $X_0 = 10 \times 2 \times 0,822 = 16,44.$

Отгонка свободных кислот:

$$X_1 = 8,9 \times 2 \times 0,822 = 14,63;$$

$$X_2 = 6,0 \times 2 \times 0,822 = 9,86;$$

$$X_3 = 4,2 \times 2 \times 0,822 = 6,90.$$

Отгонка связанных кислот:

$$Y_1 = 14,3 \times 2 \times 0,822 = 23,50;$$

$$Y_2 = 8,5 \times 2 \times 0,822 = 13,97;$$

$$Y_3 = 5,1 \times 2 \times 0,822 = 8,38.$$

1. Количество свободной уксусной кислоты: $0,05943 \times (9,86 + 6,90) - 0,02059 \times 14,63 = 0,70\%$.

2. Количество свободной масляной кислоты:

$$0,04541 \times 14,63 - 0,043824 \times (9,86 + 6,90) = 0,663 - 0,735 \text{ (минус)}.$$

Разность получилась со знаком минус, следовательно, свободной масляной кислоты нет, результат расчета считаем равным нулю.

3. Сумма свободной и связанной уксусной кислоты:

$$0,05943 \times (13,97 + 8,38) - 0,02059 \times 23,50 = 0,84\%.$$

4. Содержание связанной уксусной кислоты:

$$0,84 - 0,70 = 0,14\%.$$

5. Сумма свободной и связанной масляной кислоты:

$$0,04541 \times 23,50 - 0,043824 (13,97 + 8,38) = 0,09\%.$$

6. Содержание связанной масляной кислоты:

$$0,09 - 0 = 0,09\%.$$

7. Вспомогательные расчеты для молочной кислоты:

$$1) 3,9620 \times (9,86 + 6,90) - 1,3724 \times 14,63 = 46,32.$$

$$2) 2,0641 \times 14,63 - 1,9920 \times (9,86 + 6,90) = 30,20 - 33,38 \text{ (минус)}.$$

Разность получается со знаком минус, поэтому результат вычислений считаем равным нулю.

$$3) \text{ сумма: } 46,23 + 0 = 46,23.$$

8. Количество молочной кислоты:

$$0,09 \times 16,44 - 0,0225 \times (46,23 + 0) = 0,09 \times 16,44 - 0,0225 \times 46,23 = 0,44\%.$$

9. Общее содержание кислот в силосе (свободных и связанных):

$$0,84 + 0,09 + 0,44 = 1,37\%.$$

По таблице находим, что исследуемый силос можно оценить как средний.

Качественная оценка силоса производится и микробиологическими исследованиями, которые более полно отражают динамику развития микрофлоры в нем. При этом выявляются не все виды микроорганизмов, встречающиеся в силосе, а основные, ведущие группы их, существенно влияющие на кормовые достоинства силоса. Сюда должны быть отнесены группы: молочнокислых бактерий, маслянокислых, гнилостных, газообразующих, дрожжей. Но это больше относится к руководствам по силосованию.

ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРМОВ



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРВОНАЧАЛЬНОЙ ИЛИ НАТУРАЛЬНОЙ ВЛАЖНОСТИ

НАТУРАЛЬНАЯ влажность корма — это количество воды в нем в момент взятия пробы. Она определяется высушиванием пробы при температуре 60—65° до постоянного веса примерно в течение 4—5 часов.

Пробу корма, высушенную на предварительно взвешенном бумажном противне или в стеклянном бюксе, через сутки взвешивают и вычисляют первоначальную или натуральную влагу в процентах по формуле:

$$B = \frac{b \cdot 100}{a},$$

где b — разница в весе корма до и после высушивания, г;
 a — навеска корма при первоначальной влажности, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИГРОСКОПИЧЕСКОЙ ВЛАГИ

Количество гигроскопической влаги в разных пробах кормов бывает различное, влажность одной и той же пробы также может изменяться в зависимости от температуры и влажности атмосферного воздуха или помещения, где хранятся пробы кормов.

Гигроскопическая влажность корма — это количество воды, которое находится в воздушно-сухой пробе корма, т. е. после удаления первоначальной влаги. Пробы корма, высушенные при 60—65° и находившиеся в течение суток на открытом воздухе в лабораторном помещении, содержат в себе только гигроскопическую влагу.

Ход определения. Вначале высушивают в сушильном шкафу при температуре 100—105° в течение часа бюкс с крышкой, после охлаждения в эксикаторе взвешивают его на аналитиче-

ских весах. На дне эксикатора должно быть влагопоглощающее вещество — безводный хлористый кальций. Затем в подготовленный таким образом бюкс помещают 2 г воздушно-сухого измельченного корма и сушат на протяжении 4—5 часов в сушильном шкафу при температуре 100—105° до получения постоянного веса, т.е. пока разница между двумя взвешиваниями будет не больше одной тысячной грамма.

Количество гигроскопической влаги вычисляют по формуле:

$$A = \frac{b \cdot 100}{a},$$

где A — гигроскопическая влага, %; b — разница веса до и после высушивания, г; a — навеска воздушно-сухого корма, г.

Сумма первоначальной и гигроскопической влаги пробы составляет общую влагу исследуемого корма.

Количество всей воды в корме вычисляется по формуле:

$$X = B + \frac{A \cdot (100 - B)}{100},$$

где X — общая влага, %;

B — первоначальная влага, %;

A — гигроскопическая влага, %.

Количество всей воды в пробах кормов можно определить сразу, высушиванием их в сушильном шкафу при температуре 100—105° до постоянного веса.

Абсолютно сухое вещество корма составляет разницу между весом пробы при натуральной влажности и весом навески после удаления общей влаги. Его содержание выражается в процентах.

ОЗОЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗОЛЫ

При озолении кормов органические вещества сгорают, а все минеральные (макро- и микроэлементы) остаются в виде золы. Количество золы (в граммах) составляет разницу между первоначальным весом пробы и весом после ее озоления.

Скорость сжигания проб зависит от вида корма и его качественного состава. Корма, содержащие фосфорнокислые соли, сгорают медленно. Озоление нужно производить с большой осторожностью. Вначале пробы корма во взвешенных заранее фарфоровых тиглях озоляются при низкой температуре на электроплитке в вытяжном шкафу. Затем тигли с навеской ставят в муфельную печь и озоляют при темно-красном накале муфельной печи, т.е. при температуре 500—600°, что достигается регулированием накала с помощью реостата. Озоление производится до получения серой или светло-серой золы. При сильном и неосторожном нагревании частицы корма могут выбрасываться из тиглей, а также улетучиваются хлористые соединения щелочных металлов, соединения фосфора и серы.

По окончании озоления щипцами тигель вынимают из муфеля, ставят для предварительного остывания на щиток, имеющийся у муфеля, после чего тигель помещают на 20—25 минут в эксикатор, а затем взвешивают.

Количество золы вычисляют по формуле:

$$X = \frac{v \cdot 100}{a},$$

где X — содержание золы в воздушно-сухом веществе, %; v — вес золы, г, составляет разность между весом тигля, с золой и весом пустого тигля; a — навеска корма, взятая для озоления, г.

Вычисление количества золы в процентах к абсолютно сухому веществу производят по формуле:

$$X_{\text{сух.}} = \frac{v \cdot 100}{a} \cdot \frac{100}{100 - A},$$

где $X_{\text{сух.}}$ — количество золы в сухом веществе, %; v — вес золы, г; a — навеска корма, взятая для сжигания; A — гигроскопическая влага исследуемого корма, %.

Зола, полученная таким путем, называется «сырой», так как она содержит примеси: углекислоту, образующуюся в процессе сжигания, несгоревшие частицы угля и песка.

Для определения «чистой» золы берут 2 — 3 г «сырой» золы, помещают в колбу Эрленмейера на 200 мл, в нее вливают небольшое количество дистиллированной воды для смачивания, затем добавляют по каплям около 1,5 мл концентрированной соляной кислоты и в 6 раз больше, чем кислоты, горячей дистиллированной воды и кипятят на сетке 15 минут. После охлаждения жидкость фильтруют через беззольный фильтр. Осадок на фильтре промывают горячей дистиллированной водой и переносят с фильтра в стакан, в который добавляют 50 мл 5%-ного водного раствора соды. Раствор в стакане перемешивают и фильтруют через высушенный в сушильном шкафу и взвешенный на аналитических весах фильтр. При этом на фильтре остается уголь и песок, которые промывают горячей дистиллированной водой.

Фильтр вместе с осадком высушивают в сушильном шкафу при температуре 100—105° в течение 4—6 часов, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Разница между весом фильтра с осадком и самого фильтра составляет вес угля и песка.

Для определения отдельно количества угля и песка этот фильтр с осадком помещают во взвешенный тигель и сжигают в муфельной печи до полного сгорания угля.

После охлаждения тигель взвешивают и по разнице до сжигания угля и после находят вес песка.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЫРОГО ЖИРА

При воздействии на корма тех или других органических растворителей из них извлекаются (экстрагируются) не только жиры, но и фосфатиды, стериды, эфирные масла, дубильные вещества, пигменты, некоторые витамины и другие — «сырой» жир.

Пробы корма, предназначенные для определения в них «сырого» жира (по методу П. Х. Попандопуло), предварительно измельчают. По этой методике жир экстрагируют бензином с точкой кипения 75—80°. Лучше пользоваться авиационным перегнанным бензином марки Б-70.

Патроны-пакетики из писчей бумаги сушат в бюксах до постоянного веса при температуре 100—105°. Затем в них помещают по 2—3 г испытуемого вещества и сушат в тех же бюксах опять до постоянного веса. Высушенные пакетики с веществом помещают в колбу для экстракции жира и заливают на $\frac{2}{3}$ ее бензином. Присоединив к колбе воздушный холодильник (стеклянная трубка длиной около 1 м и 1,5 см в диаметре) стеклянной пробкой, нагревают ее на закрытой электроплитке или водяной бане в течение 30 минут. Кипение бензина в колбе регулируют так, чтобы пары его успевали конденсироваться в воздушном холодильнике и стекать обратно в колбу. Затем сливают бензин с растворившимся в нем «жиром» в отдельную склянку и, заливая пакетики в колбе чистым бензином, экстрагируют еще 30 минут. То же проделывают третий раз.

После третьего экстрагирования бензин сливают, пакетики с навесками испытуемого вещества извлекают из колбы и высушивают сначала на воздухе, а затем в тех же бюксах — в сушильном шкафу при температуре 100—105°. После высушивания пакетики взвешивают на аналитических весах и по разности между весом абсолютно сухого вещества до и после обезжиривания, вычисляют процент жира. В зависимости от емкости колбы можно одновременно определять жир в нескольких образцах. Образцы лучше подбирать однородные. Исследование «сырого» жира производится по его основным фракциям. Определяются свободные жирные кислоты и неомыляемые вещества.

Сущность определения свободных жирных кислот состоит в связывании их титрованной щелочью. Неомыляемые вещества выделяются из «сырого» жира после его омыления и определяются весовым способом. Содержание нейтрального жира вычисляют по разности между количеством «сырого» жира и суммой свободных жирных кислот и неомыляемых веществ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЗАЗОТИСТЫХ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Безазотистые экстрактивные вещества при анализе кормов обычно определяются арифметическим вычислением: они состав-

ляют разность при вычитании из 100 суммы процентов гигроскопической воды, «сырой» золы, «сырой» клетчатки, «сырого» жира и «сырого» протеина в воздушно-сухом веществе.

Химический состав безазотистых экстрактивных веществ очень разнообразен; они объединяют сахара, декстрин, крахмал, гемицеллюлозу и лигнин. В растительных кормах, например, преобладают углеводы: сахар, камеди, растворимые в воде, крахмал, часто гемицеллюлозы, нерастворимые в воде, но легко растворяющиеся в слабых концентрациях кислот.

Определение безазотистых экстрактивных веществ дает только приблизительную оценку питательности исследуемого корма. Для разработки научно-исследовательских и практических вопросов по кормлению животных такой способ определения безазотистых экстрактивных веществ недостаточен.

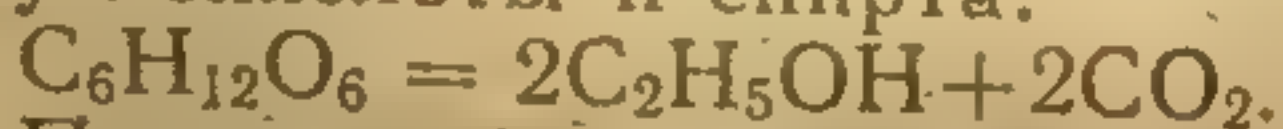
ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДНО-ЛИГНИННОГО КОМПЛЕКСА

Заключается в том, что в кормах последовательно определяют растворимые и легко гидролизуемые углеводы (сахара, крахмал, гемицеллюлозы, часть пектиновых веществ), лигнин, целлюлозу.

Углеводы состоят из двух основных групп сахаров: моносахаридов (простых углеводов) с формулой $(C_6H_{12}O_6)_n$, (глюкоза, манноза, фруктоза, галактоза) и полисахаридов (сложных углеводов), формула их $(C_6H_{10}O_5)_n$ (крахмал, целлюлоза и др.).

При гидролизе сложных углеводов образуется определенное количество молекул простых углеводов.

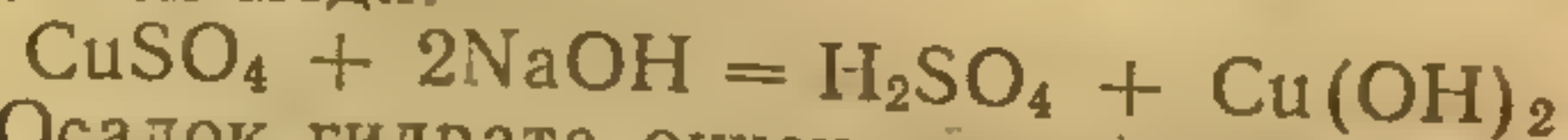
Глюкоза — $CH_2OH(CHOH)_4 \cdot CONH_2$ — в растениях встречается в чистом виде и как основная часть сложных углеводов. Она хорошо растворяется в воде и не растворяется в спирте и эфире. Под влиянием дрожжевого грибка глюкоза разлагается до углекислоты и спирта:



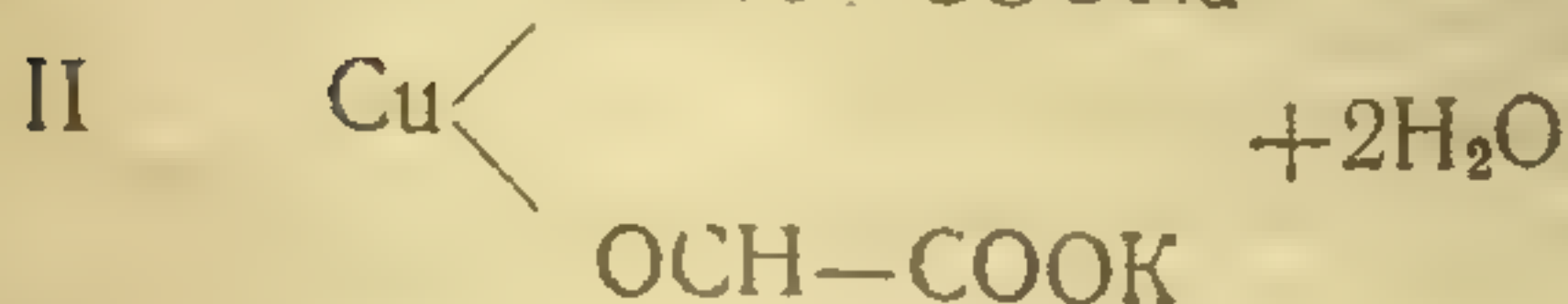
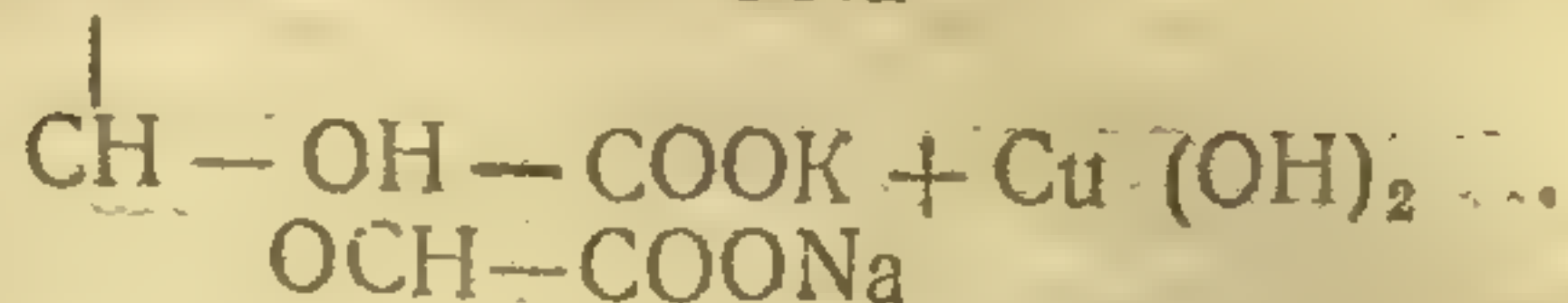
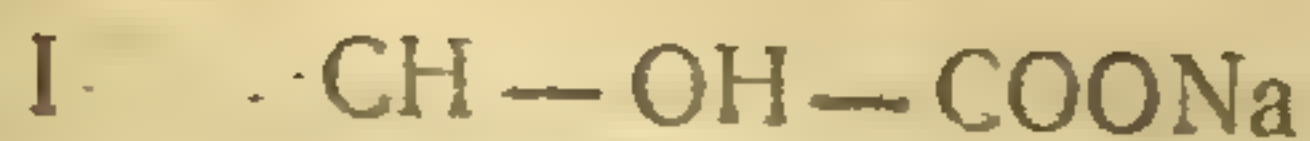
Под воздействием щелочи глюкоза легко окисляется; метод количественного определения глюкозы по Бертрану на этом и основан, т. е. на способности сахаров восстанавливать окись меди до закиси.

Раствор сернокислой меди приготавливается в виде так называемой жидкости Фелинга: смесь одинаковых объемов отдельно приготовленных растворов — щелочного, виннокислого калия — натрия (сегнетовой соли) и медного купороса.

При смешивании вначале образуется голубой осадок гидрата окиси меди:



Осадок гидрата окиси меди реагирует с сегнетовой солью, он растворяется, и раствор (жидкость Фелинга) окрашивается в темно-синий цвет.

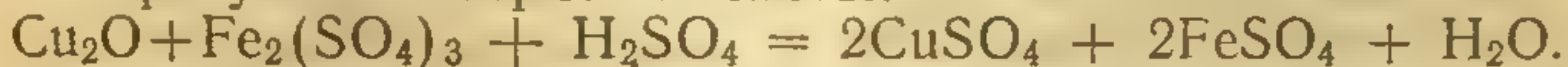


При нагревании с жидкостью Фелинга глюкоза окисляется кислородом окиси меди, которая восстанавливается до закиси:
 $2\text{CuO} = \text{Cu}_2\text{O} + \text{O}$.

Закись меди выпадает в виде красного осадка, количество которого можно определить объемным или весовым способом и рассчитать содержание углеводов.

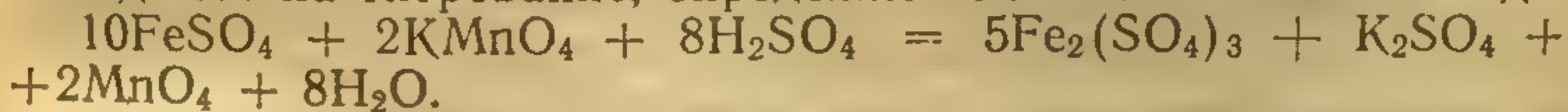
Обычно делают так:

а) осадок растворяют раствором сернокислого железа окисного в присутствии серной кислоты:



При этом закись меди переходит в сернокислую окись меди, а железо сернокислое окисное переходит в железный купорос;

б) количество образовавшегося железного купороса определяют, титруя раствором перманганата калия до розового окрашивания. По количеству раствора марганцовокислого калия, пошедшего на титрование, определяют количество закиси меди:



Из уравнения видно, что 10 атомов железа соответствуют 2KMnO_4 , 2 атома меди — 2 атомам железа. Следовательно, 10 атомов меди соответствуют 2 молекулам марганцовокислого калия.

10 атомов меди имеют атомный вес 635,7, 2 молекулы марганцовокислого калия имеют молекулярный вес 316,08, отсюда 635,7 мг меди соответствуют 316,08 мг марганцовокислого калия, а 1 мг KMnO_4 — такому количеству меди:

$$\frac{635,7}{316,08} = 2,01 \text{ мг.}$$

При определении сахара по Бертрону для титрования применяется 0,1 н раствор KMnO_4 , который в каждом миллилитре содержит 3,16 мг кристаллического KMnO_4 , отсюда можно узнать, какому количеству меди соответствует 1 мл этого раствора:

$$X = \frac{2,01 \cdot 3,16}{1} = 6,36 \text{ мг.}$$

Итак, каждый мл 0,1 н раствора KMnO_4 соответствует 6,36 мг Cu. Умножая количество раствора перманганата калия, пошедшее на титрование, на 6,34, получают количество меди в миллиграммах.

Пользуясь таблицей Бертрана, по известному количеству меди находят количество глюкозы в миллиграммах.

Ход определения. Из пробы готовят вытяжку. Для этого взвешивают 5—10 г сырого или 2—3 г сухого измельченного корма и помещают их в колбу Эрленмейера на 300 мл, добавляют 100 мл дистиллированной воды и, непрерывно помешивая, нагревают на водяной бане при температуре 50° в течение 1 часа.

После этого жидкость с осадка сливают в отдельную колбу, а на осадок наливают 100 мл дистиллированной воды и опять нагревают в течение 1 часа. Такую экстракцию повторяют еще раз. Все экстракты собирают вместе, фильтруют, переносят в мерную колбу на 0,5 л, доводят водой до метки и хорошо перемешивают. Из полученного раствора берут 50 мл, переносят в стакан или колбу на 300 мл, добавляют туда 40 мл раствора медного купороса и 40 мл щелочного раствора сегнетовой соли.

Этот раствор кипятят 3 минуты, при этом выпадает красный осадок закиси меди. Раствор в колбе в течение нескольких минут отстаивается, чтобы выпал осадок, после чего его фильтруют через трубку Аллина в колбу Бунзена, соединенную с водоструйным насосом.

В узкой части трубки Аллина находится асбестовый фильтр. Фильтровать жидкость нужно осторожно, не перенося осадка на фильтр. Жидкость синеватого цвета, находящуюся над осадком, осторожно сливают на фильтр, к осадку приливают горячую дистиллированную воду, раствор хорошо перемешивают, взвеси в растворе дают осесть и опять жидкость переносят на фильтр. Такую промывку осадка повторяют до тех пор, пока вытекающие капли промывных вод не будут совсем светлыми. После этого трубку Аллина вместе с пробкой снимают с колбы, закрывают водоструйный насос, синий раствор выливают, колбу хорошо промывают водой и снова вставляют трубку.

К осадку, находящемуся в стакане, добавляют небольшое количество (10 мл) раствора сернокислого окисного железа. Осадок растворяется, и раствор выливают на фильтр для растворения частиц осадка, оставшихся при первом фильтровании. Чтобы осадок растворился полностью, его разрыхляют стеклянной палочкой и несколько раз промывают горячей водой.

После фильтрования с колбы снимают трубку, выключают насос и выливают раствор в стакан. Колбу промывают 2—3 раза небольшими количествами воды, которую тоже выливают в стакан, и титруют 0,1 н раствором марганцевокислого калия до розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 минуты. Конец реакции легко виден по розовому окрашиванию от одной лишней капли марганцевокислого калия.

По количеству мл 0,1 н раствора KMnO_4 , пошедшего на титрование, определяют количество меди в миллиграммах, как ука-

10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000

зано выше, а по таблице Бертрана находят количество глюкозы в 50 мл раствора, в мг. Чтобы найти количество глюкозы в процентах, пользуются формулой:

$$x = \frac{v \cdot 10 \cdot 100}{a \cdot 1000} = \frac{v}{a},$$

где x — количество глюкозы, %;

v — количество глюкозы в 50 мл раствора, мг;

100 — для вычисления в %;

10 — для вычисления количества глюкозы в 500 мл раствора, т. е. в навеске;

1000 — для перевода мг в г;

a — навеска корма, г.

Определение глюкозы по Бертрону (мг)

Глюкоза	Медь	Глюкоза	Медь	Глюкоза	Медь
10	20,4	40	77,5	70	129,8
11	22,4	41	79,3	71	131,4
12	24,3	42	81,1	72	133,1
13	26,3	43	82,9	73	134,7
14	28,3	44	84,7	74	136,3
15	30,2	45	86,4	75	137,9
16	32,2	46	88,2	76	139,6
17	34,2	47	90,0	77	141,2
18	36,2	48	91,8	78	142,8
19	38,1	49	93,6	79	144,5
20	40,1	50	95,4	80	146,1
21	42,0	51	97,1	81	147,7
22	43,9	52	98,9	82	149,3
23	45,8	53	100,6	83	150,9
24	47,7	54	102,3	84	152,5
25	49,6	55	104,1	85	154,5
26	51,5	56	105,8	86	155,6
27	53,4	57	107,6	87	157,2
28	55,3	58	109,3	88	158,8
29	57,2	59	111,1	89	160,4
30	59,1	60	112,8	90	162,0
31	60,9	61	114,5	91	163,6
32	62,8	62	116,2	92	165,2
33	64,6	63	117,8	93	166,7
34	66,5	64	119,6	94	168,3
35	68,3	65	121,3	95	169,9
36	70,1	66	123,0	96	171,5
37	72,0	67	124,7	97	173,1
38	73,8	68	126,4	98	174,6
39	75,7	69	128,1	99	176,2

Реактивы. 1. Жидкость Феллинга, состоящая из двух растворов, смешиваемых в равных объемах: а) раствор CuSO_4 — 40 г сернокислой меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) растворяют в 1 л воды и

фильтруют; б) щелочной раствор сегнетовой соли — 200 г сегнетовой соли (виннокислый калий — натрий $C_4H_4O_6KNa \cdot 4H_2O$) растворяют, добавляют 150 г едкого калия или едкого натра и доводят водой до 1 л.

2. Раствор сернокислого железа окисного: 50 г $Fe_2(SO_4)_3$ растворяют, добавляют 200 г (108,6 мл) концентрированной серной кислоты и доводят водой до 1 л.

3. 0,1 н раствор $KMnO_4$ — 3,16 $KMnO_4$ растворяют и доводят водой до 1 л. Титр раствора $KMnO_4$ систематически проверяют раствором щавелевой кислоты или щавелевокислого аммония.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРА В КОРНЕПЛОДАХ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Определение основано на свойстве светового луча отклоняться от своего прямолинейного пути на больший или меньший угол в зависимости от количества сахара в растворе. Рефрактометрами РДУ или РПЛ находят коэффициент преломления раствора и по таблице определяют количество сахара в нем.

Перед работой рефрактометр нужно проверить и установить на нулевое положение. Для этого между призмами прибора помещают каплю дистиллированной воды и смотрят в окуляр. Поворачивая компенсаторы, получают четкое разделение светлой и темной частей поля зрения. Если полоса, разделяющая поля, не совпадает с нулем, то маленькой отверткой поворачивают регулировочный винт и устанавливают границу между светлой и темной полосами на нуль. Рефрактометр дает правильные показания при температуре 20°. При других температурах нужно вносить поправку. Если она выше 20°, поправку к показаниям добавляют, а если ниже — отнимают.

Поправки на температуру для полевого рефрактометра

Температура (градусы)	10—11	12—13	14—15	16—17	18—19	20	21—22	23—24	25—26	27—28	29—30
Поправка	—0,6	—0,5	—0,4	—0,2	—0,1	0	+0,1	+0,2	+0,3	+0,5	+0,7

Ход определения. Щупом из исследуемой свеклы, моркови и т. п. берут пробу. Щуп вводят в корнеплод под углом в 35—40°. Кусочки пробы укладывают на пресс и отжимают до тех пор, пока сок не перестанет выделяться в его углубление. Маленькой пипеткой берут каплю сока и помещают ее на измерительную призму рефрактометра. После этого опускают верхнюю призму и отсчитывают показания шкалы, а затем по таблице находят содержание сахара в процентах.

В некоторых типах приборов на границе разделения полей указано процентное содержание сахара.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРАХМАЛА (ОСАХАРИВАНИЕ ДИАСТАЗОЙ)

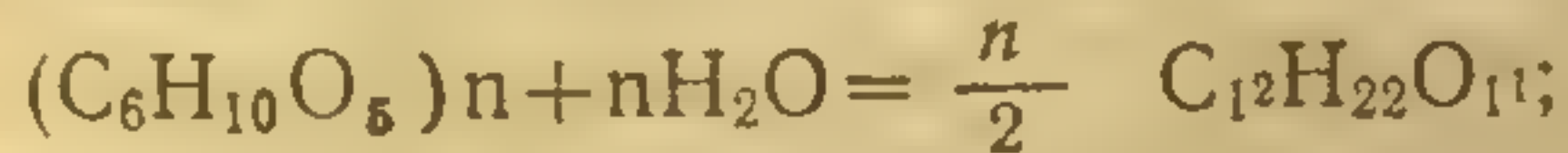
Крахмал-полисахарид $(C_6H_{10}O_5)_n$ наиболее распространен в растительных кормах. Это конечный продукт ассимиляции углерода растением. Крахмал в большом количестве находится в семенах злаковых (50—80%), в клубнях картофеля (11—20%). При прорастании семян он переходит в более простые соединения.

Крахмал состоит из двух частей: амилазы и амилопектина. В холодной воде он не растворяется, в горячей амилазе образует коллоидный раствор (крахмальный клейстер), а амилопектин лишь набухает.

Качественная реакция на крахмал ставится при действии на него раствора йода и йодистого калия. При этом получается фиолетовое окрашивание.

Количественное определение крахмала основано на способности его под действием ферментов и кислот расщеплять до глюкозы.

Реакция гидролитического расщепления крахмала примерно идет так:



Ход определения. Берут 2—3 г хорошо измельченного сухого материала, помещают его в колбу емкостью 500 мл, добавляют 10—15 мл холодной дистиллированной воды, чтобы увлажнить навеску, и заливают 150—200 мл нагретой до кипения воды. Колбу закрывают пробкой, сквозь которую проходит стеклянная трубка (диаметром — 1 см, длина — 70 см), и нагревают на водяной бане в течение 1 часа.

После клейстеризации добавляют немного (0,2—0,3 г) фермента диастазы и нагревают еще 3—4 часа до полного просветления раствора и перехода крахмала в мальтозу. Конец реакции гидролиза проверяют йодной пробой. Для этого несколько капель испытуемого раствора набирают стеклянной палочкой и наносят на фарфоровую чашку, добавляют 2—3 капли водного раствора йода и йодистого калия; 1 г кристаллического йода и 2 г йодистого калия, растворенных в 100 мл дистиллированной воды. Появление синей окраски указывает на наличие крахмала. Гидролиз крахмала картофеля проходит быстро, а крахмала злаковых длится 8—12 часов.

При гидролизе температуру поддерживают не выше 50—60°, чтобы не прекращалось действие фермента. Проверив отсутствие крахмала, раствор фильтруют в мерную колбу емкостью 0,5 л. Осадок промывают несколько раз водой, собирая промывные воды вместе с основным раствором, а затем доливают водой до метки. Раствор хорошо перемешивают и берут из него 250 мл в отдельную колбу. Добавляют 25 мл 25%-ной со-

ляной кислоты, хорошо взбалтывают и нагревают на водяной бане в течение 3 часов. Происходит гидролиз мальтозы в глюкозу. Потом раствор охлаждают, добавляют несколько капель метилоранжа и нейтрализуют щелочью до появления желтой окраски. Полученный раствор переносят в мерную колбу емкостью 0,5 л, добавляют воды до метки, хорошо перемешивают и берут из этого раствора 50 мл для определения глюкозы по Бертрону.

При отсутствии диастазы можно в полученный крахмальный клейстер добавить 40 мл 25%-ной соляной кислоты и кипятить на водяной бане до полного исчезновения крахмала (проба на крахмал йодом). Дальше исследование проводят так же, как и при определении глюкозы.

Если анализируемое вещество содержит водорастворимые углеводы, то их необходимо извлечь из него. Для этого навеску корма с водой нагревают при температуре не выше 40° на водяной бане в течение 4—5 часов, затем фильтруют и в фильтрате определяют водорастворимые углеводы, а в осадке — крахмал. При анализе на крахмал кормов, богатых жиром, навеску вначале обезжиривают, а затем определяют крахмал.

Расчет количества крахмала производят так. По Бертрону определяют количество глюкозы в 50 мл исследуемого раствора, умножают этот результат на 10, получают количество миллиграммов глюкозы в 500 мл. Затем миллиграммы переводят в граммы (делят на 1000) и умножают на 0,9. Это отношение наименьшего молекулярного веса крахмала (162,1) к молекулярному весу глюкозы (180,1) $= \frac{162,1}{180,1} = 0,9$. Получается количество крахмала в 500 мл раствора в граммах.

Количество крахмала в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{K \cdot 100 \cdot 2}{a},$$

где K — вес крахмала в 500 мл раствора, г;

a — навеска корма, г;

2 — коэффициент для подсчета количества крахмала во всем растворе.

Реактивы. 1. Соляная кислота 25%-ная: 63,5 мл концентрированной химически чистой HCl (уд. вес 1,19) доводят дистиллированной водой до 100 мл.

2. Едкий натрий 10%-ный: 100 г кристаллического NaOH растворяют в 900 мл дистиллированной воды.

3. Диастаза сухая.

Сухую диастазу можно приготовить. Для этого отвешивают 500 г хорошо измельченного ржаного или пшеничного солода, добавляют около 350 мл дистиллированной воды и 700 мл глицерина. Оставляют в теплом помещении на 8 суток, часто взбалтывая. Потом жидкость отсасывают через воронку Брюхнера. Реактив сохраняют в банке с притертой пробкой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРАХМАЛА В КАРТОФЕЛЕ ПО УДЕЛЬНОМУ ВЕСУ

Удельный вес картофеля находится в прямой зависимости от наличия в нем крахмала.

Ход определения. Готовят насыщенный раствор NaCl (уд. вес 1,2), опускают в него вымытые от земли и высушенные полотенцем клубни картофеля. Картофель будет плавать на поверхности. Потом при перемешивании к раствору добавляют воду до концентрации, при которой картофель держался бы в жидкости на любой высоте.

Ареометром определяют удельный вес раствора при температуре 15° и по таблице находят содержание крахмала в процентах.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИГНИНА И ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Целлюлоза $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ — полисахарид растительного происхождения. Ее всегда сопровождают так называемые инкрустирующие вещества (лигнин, кутин, суберин), не растворимые в воде, стойкие по отношению к кислотам и щелочам.

Целлюлоза расщепляется концентрированной серной кислотой $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n + \text{H}_2\text{O} = n\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.

При действии соляной кислоты образуется гидроцеллюлоза.

Формула лигнина не установлена. Чем больше в растении лигнина, тем ниже его питательность.

Ход определения. Берут 2 г корма, помещают в эрленмейеровскую на 500 мл колбу, добавляют 200 мл 2%-ного раствора соляной кислоты и нагревают на водяной бане в течение 4—5 часов. Чтобы предохранить жидкость от испарения, колбу закрывают резиновой пробкой со стеклянной трубкой — воздушным холодильником. Отдельно в сушильном шкафу при температуре $100—105^\circ$ в течение 3 часов высушивают фильтр, после охлаждения взвешивают и затем через него фильтруют экстракт.

Осадок переносят на фильтр и промывают горячей водой до нейтральной реакции.

Вытекающие из-под воронки капли проверяют по синей лакмусовой бумажке. В присутствии кислоты лакмусовая бумажка краснеет. Фильтрат выливают.

Промытый осадок вместе с фильтром сушат в сушильном шкафу при температуре $100—105^\circ$ в течение 3 часов, а затем после охлаждения взвешивают.

Из высушенного осадка отвешивают 0,5 г и переносят в колбу на 300 мл, добавляют серную кислоту (72,5%-ной концентрации), в десятикратном количестве от веса взятого осадка, и ставят в термостат на 2 часа при температуре $30—40^\circ$.

После этого добавляют на каждый миллилитр серной кислоты 15 мл дистиллированной воды и в течение 2 часов кипятят на

плитке с сеткой, вставляя в колбу пробку с обратным холодильником. Затем фильтруют через заранее высушенный и взвешенный на аналитических весах фильтр. Осадок переносят на фильтр, где промывают горячей водой до нейтральной реакции (проба на синюю лакмусовую бумагу).

Промытый осадок высушивают в сушильном шкафу при температуре 100—105° (3 часа). Затем взвешивают и по разнице между весом осадка с фильтром и фильтра находят вес осадка, или «сырого» лигнина.

В фильтре задерживается некоторое количество глюкозы, получающейся в результате гидролиза целлюлозы. Чтобы определить количество целлюлозы, сначала находят количество глюкозы по Бертрону. Для этого к фильтрату добавляют несколько миллилитров уксуснокислого свинца (белки осаждаются), перемешивают и фильтруют в мерную колбу емкостью 0,5 л, доливают дистиллированной водой до метки, перемешивают и берут 50 мл раствора для определения глюкозы по Бертрону. При умножении количества глюкозы на 0,9 получают количество целлюлозы.

Схема записи при определении лигнина

№ п/п.	Название корма	Навеска корма для анализа (А), г	Вес высушенного фильтра, г (первого)	Вес фильтра + осадок (г)	Вес осадка (В), г	Навеска осадка для анализа (В), г	Прибавлено		Вес фильтра после сушки, г (второго)	Вес фильтра осадок (г)	Вес осадка (г)	Лигнин (%)
							H ₂ SO ₄ (мл)	H ₂ O (мл)				

Схема записи при определении целлюлозы

№ п/п.	Название корма	Всего фильтрата (мл)	Взято фильтрата для анализа (мл)	KMnO ₄ , пошедший на титрование (мл)	Соответствует (умножая на 6,36)	Соответствует миллиграмм глюкозы по таблице	Глюкозы во всем растворе, г (умножить на 10)	Глюкозы, г (разделить на 1000)	Целлюлозы, г (Е, умножить на 0,9)	Целлюлозы (%)

плитке с сеткой, вставляя в колбу пробку с обратным холодильником. Затем фильтруют через заранее высушенный и взвешенный на аналитических весах фильтр. Осадок переносят на фильтр, где промывают горячей водой до нейтральной реакции (проба на синюю лакмусовую бумагу).

Промытый осадок высушивают в сушильном шкафу при температуре 100—105° (3 часа). Затем взвешивают и по разнице между весом осадка с фильтром и фильтра находят вес осадка, или «сырого» лигнина.

В фильтре задерживается некоторое количество глюкозы, получающейся в результате гидролиза целлюлозы. Чтобы определить количество целлюлозы, сначала находят количество глюкозы по Бертрану. Для этого к фильтрату добавляют несколько миллилитров уксуснокислого свинца (белки осаждаются), перемешивают и фильтруют в мерную колбу емкостью 0,5 л, доливают дистиллированной водой до метки, перемешивают и берут 50 мл раствора для определения глюкозы по Бертрану. При умножении количества глюкозы на 0,9 получают количество целлюлозы.

Схема записи при определении лигнина

№ п/п.	Название корма	Навеска корма для анализа (А), г	Вес высушенного фильтра, г (первого)	Вес фильтра + осадок (г)	Вес осадка (Б), г	Навеска осадка для анализа (В), г	Прибавлено	H ₂ SO ₄ (мл)	H ₂ O (мл)	Вес фильтра после сушки, г (второго)	Вес фильтра осадок (г)	Вес осадка (г)	Лигнин (%)

Схема записи при определении целлюлозы

№ п/п.	Название корма	Всего фильтрата (мл)	Взято фильтрата для анализа (мл)	KMnO ₄ , пошедший на титрование (мл)	Соответствует (умножая на 6,36)	Соответствует миллиграмм глюкозы по таблице	Глюкозы во всем растворе, г (умножить на 10)	Глюкозы, г (разделить на 1000)	Целлюлозы, г (Е, умножить на 0,9)	Целлюлозы (%)

Процент целлюлозы в воздушно-сухом корме вычисляется по формуле:

$$X = \frac{E \cdot 100}{A \cdot B},$$

$$\text{а лигнина } X = \frac{A \cdot B}{A \cdot B} \cdot 100.$$

Реактивы. 2%-ный раствор HCl : 34 мл соляной кислоты (уд. вес 1,19) смешивают с 680 мл воды; 72,5%-ный раствор H_2SO_4 : 39 мл концентрированной серной кислоты (уд. вес 1,84) смешивают с 23,5 мл дистиллированной воды; раствор уксуснокислого свинца: 300 г $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ и 50 г PbO нагревают с 50 мл воды на водяной бане до тех пор, пока масса не станет однородной, красновато-белого цвета; затем добавляют при помешивании 250 мл горячей воды, оставляют на 12 часов в теплом месте в колбе, закрытой резиновой пробкой, после этого осадок фильтруют и раствор сохраняют в хорошо закрытой бутылке.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ «СЫРОЙ» КЛЕТЧАТКИ (по Геннебергу и Штоману)

В состав «сырой» клетчатки входят инкрустирующие вещества (лигнин, кутин, суберин), целлюлоза, частично гемицеллюлоза, пентозаны, гексозаны и другие вещества. В молодых растениях клетчатки меньше, чем в старых. В листьях растений клетчатки меньше, чем в их стеблях. «Сырая» клетчатка является остатком, получаемым при обработке пробы корма слабыми растворами кислот и щелочей. Под действием серной кислоты из корма удаляются простые и сложные углеводы, а также некоторые азотистые соединения. Щелочью омыляют жиры, растворяют белки и часть инкрустирующих веществ.

Ход определения. Берут 2—3 г воздушно-сухого корма, взвешенного на аналитических весах, и помещают в химический стакан емкостью 300 мл, добавляют 200 мл 1,25%-ной H_2SO_4 и кипятят на сетке в течение 30 минут. Для поддержания постоянной концентрации кислоты в стакан через каждые 5 минут добавляют дистиллированную воду до метки, которую делают восковым карандашом на наружной поверхности стенки стакана на уровне 200 мл объема. Воду подливают сильной струей из промывалки так, чтобы она смывала частицы, приставшие к стенкам стакана.

Затем стакан снимают с нагревательного прибора, охлаждают, дают осадку осесть, а жидкость отсасывают через фильтр на стеклянной воронке с натянутой сверху мелкоячеистой металлической сеткой. После отсасывания жидкости из стакана фильтр снимают с воронки, помещают на внутреннюю стенку стакана и смывают горячей водой частицы корма. В стакан с осадком наливают 200 мл горячей воды, дают осадку осесть, и

жидкость опять отсасывают. Такое промывание горячей водой повторяют до тех пор, пока осадок не освободится от кислоты (проба на синюю лакмусовую бумагу).

К осадку после промывания добавляют 200 мл 1,25%-ного раствора NaOH и кипятят 30 минут. Затем жидкость отсасывают, осадок промывают несколько раз водой до нейтральной реакции (проба на красную лакмусовую бумагу) и только после этого осадок фильтруют через высушенный и заранее взвешенный фильтр. Фильтр должен быть высушен в сушильном шкафу при температуре 100—105° в течение 3—4 часов. Осадок на фильтре промывают спиртом и эфиром для удаления жира до тех пор, пока вытекающие капли фильтрата не станут бесцветными. Потом осадок вместе с фильтром сушат в сушильном шкафу при температуре 100—105° в течение 3—5 часов.

Осадок после высушивания охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах. По разнице между весом осадка с фильтром и самого фильтра находят вес «сырой» клетчатки, а по формуле вычисляют процентное содержание «сырой» клетчатки в пробе корма.

$$x = \frac{100 \cdot b}{a},$$

где b — вес «сырой» клетчатки, г;

a — навеска корма, г.

Реактивы. 125%-ный раствор H_2SO_4 : 12,5 г кислоты (уд. вес 1,84) разбавляют до 1 л водой; 1,25%-ный раствор NaOH: 12,5 г NaOH растворяют в 1 л воды; спирт, эфир.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ «СЫРОГО» ПРОТЕИНА И АЗОТА

Определение «сырого» протеина. Сущность метода заключается в том, что при нагревании анализируемого вещества с крепкой кислотой углерод органических веществ окисляется до углекислоты, а азот азотистых соединений освобождается в форме аммиака и образует с избытком серной кислоты сернокислый аммоний $(NH_4)_2SO_4$. При добавлении крепкой щелочи (NaOH или KOH) сульфат аммония разрушается с выделением аммиака, который связывается титрованной (0,1 н) серной кислотой.

Ход определения. Взвешивают в пробирке около 1 г исследуемого вещества, вносят пробирку в колбу Кьельдаля и высыпая навеску на ее дно. Пробирку осторожно вынимают, снова взвешивают и по разности находят взятую в колбу навеску.

В колбу наливают 10—15 мл крепкой химически чистой серной кислоты, смывая ею частицы, приставшие к внутренним стенкам горла колбы. Взбалтывая, смачивают всю навеску кислотой и подогревают на небольшом пламени горелки или на электроплитке. Если вещество начинает пениться и подниматься в узкую часть колбы, то колбу немедленно снимают с огня и покачивают в руках до оседания пены.

После этого опять нагревают колбу, следя, чтобы не повторилось вспенивание, и изредка покачивают ее, стараясь смыть кислотой приставшие к стенкам обуглившиеся частицы.

Горло колбы прикрывают маленькой воронкой или стеклянным конусом. Когда жидкость начнет спокойно кипеть, время от времени покачивают колбу и смывают горячей кислотой приставшие к стенкам черные частицы.

Чтобы ускорить реакцию окисления, в колбу можно поместить 0,5 г кристаллической сернокислой меди или ввести 30%-ную перекись водорода. Катализаторы вносят в колбу после того, как в ней появятся белые пары серного ангидрида.

Нагревание продолжают до тех пор, пока жидкость в колбе станет прозрачной или зеленоватой и исчезнут все обуглившиеся частицы.

После охлаждения, осторожно, по стенкам вливают 50—100 мл дистиллированной воды и переносят все содержимое в колбу для отгонки. Ополаскивают колбу Кьельдаля несколькими порциями воды и всякий раз смывают воду в перегонную колбу, причем количество промывной воды может быть до 200—250 мл.

В приемник (коническую колбочку на 200—250 мл) из бюретки точно отмеривают 40—50 мл 0,1 н раствора серной кислоты, прибавляют 2—3 капли 0,1%-ного раствора индикатора (метилрот) и погружают в нее свободный конец трубки с шарикообразным расширением.

В перегонную колбу всыпают мелко растертую пемзу, быстро прибавляют 33- или 40%-ный водный раствор щелочи из расчета 40 мл на каждые 10 мл серной кислоты, взятой для сжигания навески, и сейчас же закрывают колбу резиновой пробкой с каплеуловителем, соединенным через холодильник с приемной колбой (рис. 54). Легким вращательным движением перегонной колбы перемешивают ее содержимое. Сейчас же выделяются пузырьки из трубки, погруженной в приемник с титрованной серной кислотой.

Пустив в действие холодильник, начинают нагревание и отгоняют примерно две трети содержимого колбы, на что обычно требуется 25—30 минут. Аммиак по трубке холодильника попадает в приемник с титрованной серной кислотой и связывается с нею, образуя сульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Необходимая щелочная реакция смеси в перегонной колбе отмечается переходом зеленоватой окраски раствора в голубую, зависящую от образования водной окиси меди $\text{Cu}(\text{OH})_2$, которая при последующем нагревании разлагается до черной окиси меди (в том случае, если в качестве катализатора использовалась сернокислая медь).

Конец перегонки устанавливают, смачивая красную лакмусовую бумагу каплями, стекающими с конца трубки над приемником, причем лакмусовая бумага не должна синеть.

Вместо лакмусовой бумаги можно пользоваться полосками фильтровальной бумаги, смоченными 1 %-ным раствором фенолфталеина. Если капли жидкости, стекающие из трубки, не вызывают розового окрашивания полоски бумаги, отгонку можно

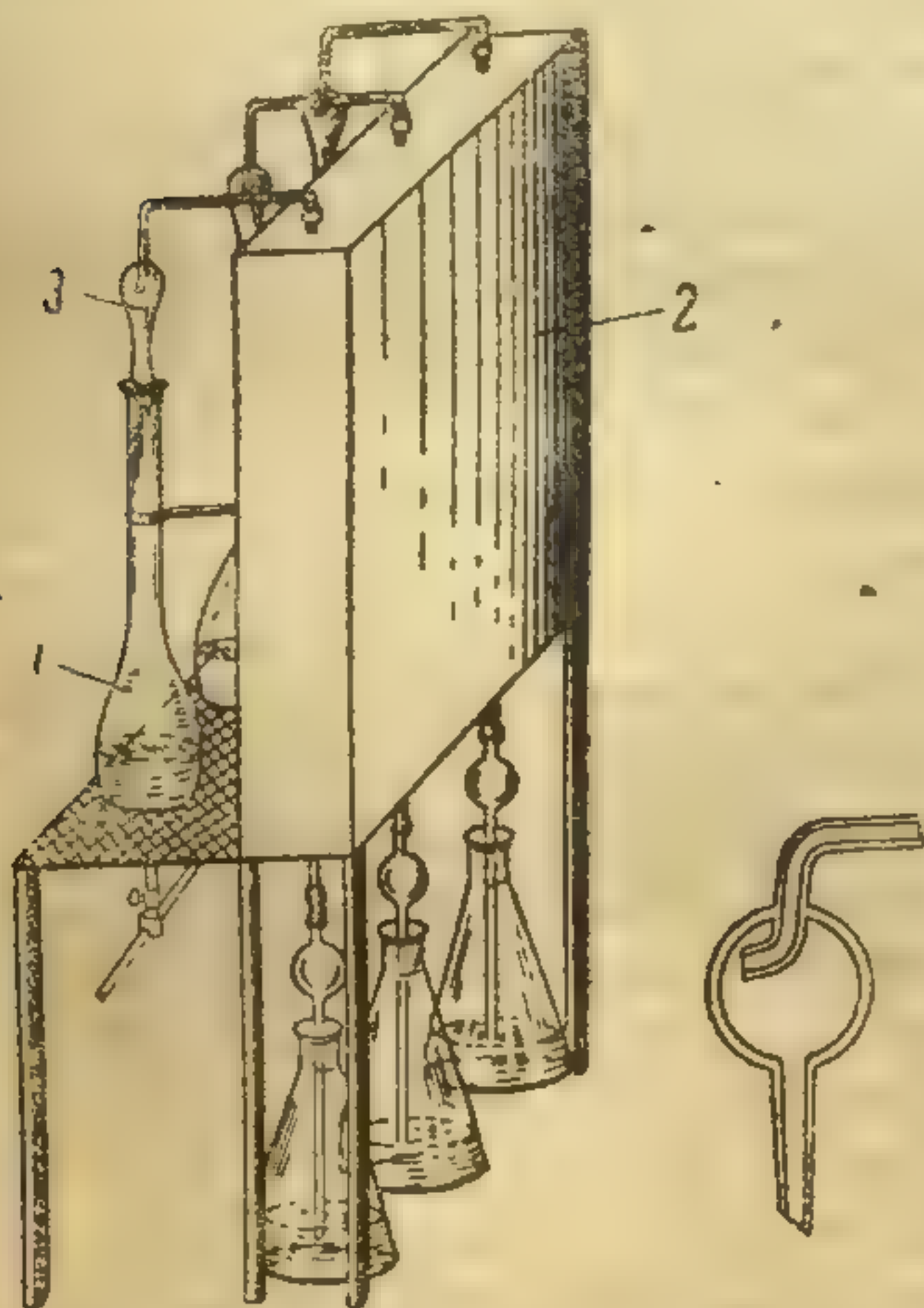


Рис. 54. Прибор для отгонки летучих органических кислот:
1 — колбы для отгонки кислот; 2 — холодильник; 3 — каплеуловитель

считать законченной. По окончании отгонки трубку снаружи обмывают водой, собирая промывные воды в приемник, и избыток серной кислоты оттитровывают децинормальным раствором едкого натрия или калия. По разности между взятой в приемник титрованной серной кислотой и оставшейся свободной вычисляют количество серной кислоты, израсходованной на связывание аммиака. Процентное содержание азота вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V_1 K_1 - V_2 K_2 \cdot 0,0014 \cdot 100}{a}$$

где V_1 — количество мл 0,1 н H_2SO_4 , взятое в приемник;
 V_2 — количество мл 0,1 н NaOH, израсходованное на титрование избытка кислоты;
 K_1 и K_2 — поправки к титру кислоты и щелочи;
0,0014 — числовой коэффициент означает, что 1 мл 0,1 н H_2SO_4 соответствует 0,0014 г азота;
 a — навеска воздушно-сухого корма, г.

Общее количество азотистых соединений или, как говорят «сырого» протеина, находят, умножая на 6,25: в «сыром» протеине содержится в среднем 16% азота ($100 : 16 = 6,25$). Прием этот условен, так как содержание азота в разных белках колеблется от 13 до 19% и, следовательно, коэффициент 6,25 не всегда пригоден.

Для пше
фициентом
ника, льна,
6,25; для бс
3,45.

Реактив
1,84); мед
30%-ная (г
0,1 н раство
едкого кали
лакмусовая
Опреде

ность получ
Некоторые
перегонке
проб и при
Ход опр

щают 0,1—
сколько кр
перекиси в
не станет б
жидкость п
водяным п

В прие
раствора

В пере
NaOH и н
му же пр

Избыт
после отг
натра или
ответству

Содерж
рассчитыв

где V_1 —
 V_2 —

K_1 и K_2 —
 a —

0,00028 —
Реактив

макрометод
натра или
0,02 н раст
вый раство

Для пшеницы, ржи, овса, ячменя следует пользоваться коэффициентом 5,83; для жмыхов, конопли, хлопчатника, подсолнечника, льна, сои — 5,30; для кукурузы, травы, сена соломы — 6,25; для бобовых — 5,7; для мяса и яиц — 6,25; для молока — 6,45.

Реактивы. Серная кислота, концентрированная (уд. вес 1,84); медный купорос ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$); перекись водорода, 30%-ная (пергидроль); едкий натр, 33 или 40%-ный раствор; 0,1 н раствор серной кислоты; 0,1 н раствор едкого натра (или едкого кали); 0,1%-ный спиртовой раствор метилрота; красная лакмусовая бумага; пемза, грубо измельченная.

Определение азота полумикрометодом Кьельдаля. Сущность полумикрометода определения та же, что и в макрометоде. Некоторые изменения вводят лишь в технике определения при перегонке аммиака и уменьшают число навесок исследуемых проб и применяемых реактивов.

Ход определения. В колбу Кьельдаля на 50—100 мл помещают 0,1—0,2 г корма, 7—8 мл (до 10 мл) мерной кислоты и несколько кристалликов сернокислой меди или 1—2 мл 30%-ной перекиси водорода. Нагревают смесь до тех пор, пока жидкость не станет бесцветной. После сжигания навески и охлаждения жидкость переливают в перегонную колбу и отгоняют аммиак с водяным паром в микроприборе Кьельдаля.

В приемную колбу отмеривают из бюретки 15—20 мл 0,02 н раствора H_2SO_4 и прибавляют 2 капли метилрота.

В перегонную колбу вливают 15—20 мл 40%-ного раствора NaOH и начинают отгонять аммиак с водяным паром по такому же принципу, как делается это в макрометоде Кьельдаля.

Избыток 0,02 н раствора серной кислоты в приемной колбе после отгонки аммиака оттитровывают 0,02 н раствором едкого натра или едкого кали; 1 мл 0,02 н раствора серной кислоты соответствует 0,00028 г азота.

Содержание азота в процентах в исследуемой пробе корма рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(V_1 K_1 - V_2 K_2) \cdot 0,00028 \cdot 100}{a},$$

где V_1 — количество 0,02 н H_2SO_4 , взятой в приемник, мл;

V_2 — количество 0,02 н NaOH , израсходованное на титрование избытка серной кислоты, мл;

K_1 и K_2 — поправка к титру для кислоты и щелочи;

a — навеска воздушно-сухого корма, г;

0,00028 — коэффициент для пересчета на азот.

Реактивы примерно такие же, как и при определении азота макрометодом. Серная кислота (уд. вес 1,84); раствор едкого натра или едкого кали 40%-ный; 0,02 н раствор серной кислоты; 0,02 н раствор едкого натра или едкого кали; 0,1%-ный спиртовой раствор метилрота; лакмусовая бумага.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО АЗОТА В КОРМАХ, ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ (по А. Т. Усовичу)

Принцип метода. При мокром озолении азот белковых и близких к ним веществ корма освобождается в форме аммиака, который связывается серной кислотой с образованием сульфата аммония. К определенному объему полученного раствора прибавляют сегнетову соль (тарtrat калия—натрия) для связывания кальция и магния в комплексные соединения (во избежание выпадения осадков $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и $\text{Mg}(\text{OH})_2$ при подщелачивании раствора). После этого к раствору добавляют реактив Несслера, который с аммиачным азотом образует йодистый меркураммоний. Раствор приобретает желтую окраску, интенсивность которой зависит от содержания солей аммония. На фотоколориметре измеряют оптическую плотность раствора с применением зеленого светофильтра (в пределах 450—500 мкм) и затем с помощью калибровочной кривой рассчитывают содержание азота в исследуемой пробе.

По сравнению с обычным методом при отгонке аммиака фотоколориметрическая методика отличается более высокой производительностью при удовлетворительной точности.

Ход анализа. 1. На аналитических весах (в пробирке) отвешивают 0,5 г сухой пробы биологического материала и помещают в колбу Кьельдаля емкостью 250 мл.

2. Мерным цилиндром в колбу прибавляют 10 мл концентрированной серной кислоты (уд. вес 1,84), осторожно перемешивают (легким покачиванием колбы) с тем, чтобы навеска была смочена кислотой, и оставляют на ночь.

3. Содержимое колбы нагревают на электроплитке или газовой горелке. Через 20—30 минут прибавляют 1—2 мл 30%-ной перекиси водорода и продолжают нагревание. Время от времени нагревание прекращают и после некоторого остывания в колбу прибавляют небольшое количество 30%-ной перекиси водорода и снова нагревают до полного обесцвечивания содержимого колбы и получения прозрачного раствора.

4. По окончании озоления содержимое колбы осторожно разбавляют дистиллированной водой и переносят (без потерь) в мерную колбу на 250 мл, доливают до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

5. После отстаивания пипеткой берут 10 мл раствора при анализе кормов (и 5 мл в случае проб органов и тканей животных), помещают в мерную колбу на 100 мл, приливают 20—25 мл дистиллированной воды, 5 мл 25%-ного раствора сегнетовой соли, бросают маленький кусочек лакмусовой бумажки и тщательно перемешивают.

6. Раствор нейтрализуют по каплям из бюретки 1 н раствором NaOH до посинения лакмусовой бумажки, после чего объ-

ем раствора в колбе доводят дистиллированной водой до 80—90 мл и хорошо перемешивают.

7. К раствору прибавляют (мерным цилиндром или пипеткой с резиновой грушей) 4 мл реактива Несслера, перемешивают, объем раствора доводят до метки дистиллированной водой и снова хорошо перемешивают.

8. Через 15 минут на фотоколориметре измеряют оптическую плотность раствора (с зеленым светофильтром) и рассчитывают содержание азота в исследуемой пробе по формуле:

$$C_N = \frac{C_x \cdot 250}{V \cdot m},$$

где C_N — содержание азота в 1 кг сухой пробы, г;

C_x — количество мг азота в 100 мл колориметрируемого раствора, найденное по калибровочной кривой;

250 — общий объем раствора, полученный после мокрого озоления пробы, мл;

V — объем, взятый в мерную колбу для колориметрирования;

m — навеска сухой пробы анализируемого материала, г.

Для пересчета данных на натуральную влажность их умножают на коэффициент гигроскопичности $K_r = \frac{100 - x}{100}$, где x — процент влаги.

При определении азота в органах и тканях животных полученный после мокрого озоления раствор приходится разбавлять в 10 раз: 10 мл раствора вносят в мерную колбу на 100 мл и доливают до метки 1 н H_2SO_4 . Результат определения в этом случае умножают на 10.

Построение калибровочной кривой. Стандартным является раствор хлористого аммония, в 1 мл которого содержится 0,005 мг азота. Для построения калибровочной кривой берут 6 мерных колб на 100 мл и в каждую из них прибавляют объемы стандартного раствора, указанные в таблице.

Номера мерных колб на 100 мл	1	2	3	4	5
Объем рабочего стандартного раствора, мл	5	10	20	30	40
Количество миллиграммов азота в 100 мл, C_x	0,025	0,05	0,10	0,15	0,20

Затем в колбы вносят по 1 мл раствора Б, добавляют до половины объема дистиллированной воды, 5 мл 25%-ного раствора сегнетовой соли, перемешивают и бросают кусочек красной лакмусовой бумажки. Растворы нейтрализуют 1 н $NaOH$ до посинения лакмусовой бумажки, а затем дистиллированной водой доводят объем растворов до 80—90 мл, хорошо перемешивают и затем в колбы добавляют по 4 мл реактива Несслера, доливают до метки водой и снова тщательно перемешивают.

Через 15 минут на фотоколориметре измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с расстоянием между гранями 10 мм, применяя зеленый светофильтр ($\lambda = 530$ мкм). Затем на миллиметровой бумаге строят калибровочный график, откладывая на оси абсцисс величины S_x (количество азота в 100 мл), а на оси ординат — отвечающие им значения оптической плотности D .

Р е а к т и в ы. 1. Основной стандартный раствор. На аналитических весах отвешивают 0,7644 г хлористого аммония NH_4Cl (марки «х. ч.») и растворяют в мерной колбе на 1 литр.

2. Рабочий стандартный раствор: 25 мл основного раствора разбавляют дистиллированной водой в мерной колбе на 1 литр. В 1 мл раствора содержится 0,005 мг азота.

3. Раствор А: 0,6 г хлористого кальция $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и 0,20 г сернокислого магния $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворяют и доводят до метки дистиллированной водой в мерной колбе на 100 мл.

4. Раствор Б: 10 мл раствора А и 8 мл концентрированной серной кислоты (уд. вес 1,84) вносят в мерную колбу на 100 мл и доливают до метки дистиллированной водой.

5. Сегнетова соль $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$, 25%-ный раствор: к 25 г сегнетовой соли добавляют 75 мл воды.

6. Реактив Несслера: 1) 10 г йодной ртути HgI_2 и 5 г KI растворяют в 50 мл воды; 2) 20 г KOH растворяют в 50 мл воды. Растворы (1) и (2) смешивают в темной или оранжевой склянке и хранят в темноте. Раствору необходимо отстояться несколько дней.

7. Едкий натр, 1 н раствор: 40 г NaOH марки «х. ч.» растворяют в мерной колбе на 1 литр.

8. Концентрированная серная кислота (уд. вес 1,84) марки «х. ч.».

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО АЗОТА ПОЛУМИКРОМЕТОДОМ КЬЕЛЬДАЛЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИБОРА ПАРНАСА-ВАГНЕРА

В последнее время в ряде лабораторий определяют содержание общего азота способом полумикрокьельдаля. Преимущество этого способа в его быстроте и экономичности.

Порядок выполнения задания. Навеска корма 0,5—1,3 г сжигается в колбе Кьельдаля, как и в случае макроопределения. После сжигания жидкость из колбы Кьельдаля переносят в мерную колбу на 100 мл.

Колбу, в которой производилось сжигание навески корма, несколько раз обмывают дистиллированной водой. Воду эту сливают тоже в мерную колбу на 100 мл, затем жидкость в колбе доводят дистиллированной водой до метки. Содержимое колбы тщательно взбалтывают, берут пипеткой из колбы от 5 до 15 мл жидкости и помещают в отгонную колбу (рис. 55).

Под трубку холодильника подставляют приемник, в который наливают 50 мл 0,01 н серной кислоты, конец трубки холодиль-

ника погружают в кислоту. В отгонную колбу аппарата через воронку приливают 10 мл 33%-ной едкой щелочи и пропускают в отгонную колбу из специальной колбы водяной пар. Пар проходит через сосуд в водоотделитель. Зажим, находящийся между парообразователем и сосудом, отвинчивают и открывают отверстие для выхода пара. При повышенном давлении жидкость в отгонной колбе быстро нагревается и закипает. Отгон аммиака заканчивается через 10—15 минут.

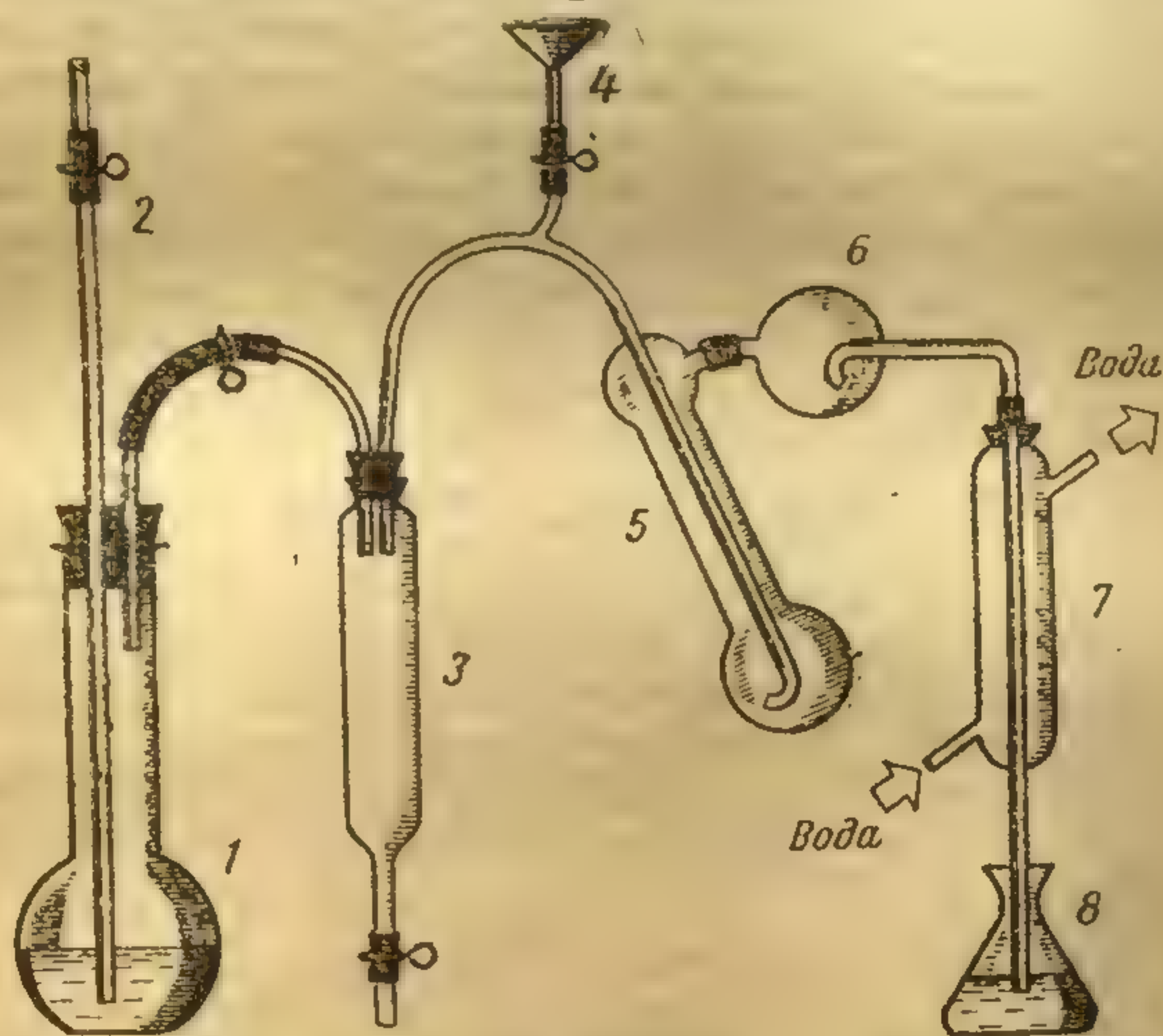


Рис. 55. Аппарат Парнаса-Вагнера для определения общего азота полумикрометодом Кьельдаля:

1 — парообразователь; 2 — предохранительный клапан; 3 — конденсатор избыточного пара; 4 — воронка для введения проб анализируемых растворов и едкого натра в перегонную колбу; 5, 6 — каплеуловитель; 7 — холодильник; 8 — приемник

В последние 5 минут перед концом отгонки приемник с титрованной кислотой опускают так, чтобы трубка холодильника не касалась кислоты в приемнике. По окончании отгонки конец трубки холодильника обмывают над приемником дистиллированной водой, затем содержимое приемника титруют 0,01 н едким натром. Количество натра, затраченного на титрование, показывает количество свободной кислоты, оставшейся в колбе.

Пример. В приемник налито 50 мл 0,01 н серной кислоты. На титрование затрачено 32 мл 0,01 н едкого натра. Количество связанной кислоты 18 мл (50—32). Один миллилитр 0,01 н серной кислоты связывает 0,00014 г азота. Следовательно, в приемнике содержится азота: $18 \cdot 0,00014 = 0,00252$ г. Для отгона из всей навески было взято 10 мл: $0,00252 \cdot 10 = 0,02520$. Для анализа была взята навеска воздушно-сухого молотого зерна кукурузы 1,204 г. Содержание азота в корме составит:

$$\frac{0,0252 \cdot 100}{1,1204} = 2,24\%.$$

Пересчет процента азота на первоначальное и абсолютно сухое вещество производят так же, как и при определении общего азота по способу Кьельдаля.

По окончании отгона аммиака следует тщательно промыть аппарат. Для этого закрывают зажим и прекращают доступ пара в отгонную колбу. Сосуд охлаждается, и внутри его создается разреженное пространство, поэтому вся жидкость из колбы для отгона переливается в сосуд. Через воронку в отгонную колбу наливают дистиллированную воду. Снова открывают зажим и пропускают пар в отгонную колбу. После закипания воды впуск пара прекращают и вода переливается в сосуд.

Необходимые реактивы, оборудование и посуда. Концентрированная серная кислота (уд. вес 1,84); 0,01 н раствор серной кислоты, 0,01 н раствор едкого натрия, индикаторы (метилоранж, конгорот).

Аппарат микрокьельдаля для отгона аммиака; конические колбы Эрленмейера емкостью 100 мл; мерные колбы на 100 мл; колбы Кьельдаля для сжигания корма емкостью 200—250 мл; воронки стеклянные диаметром 5 см; промывалка (обыкновенная); стеклянные палочки, стаканы химические на 200 мл; капельница; этажерка для титрованных растворов.

Пользуясь коэффициентом пересчета, можно определить количество сырого протеина в исследуемых кормах. Переваримый протеин определяется путем перемножения количества найденного сырого протеина на коэффициент переваримости $\frac{a}{100}$ — в процентах.

Коэффициенты для вычисления белка и протеина по количеству общего азота

Объекты исследования	Коэффициенты
Пастбищная трава, культуры зеленого конвейера, сено, солома	6,25
Силос из естественной растительности, подсолнечниковый, кукурузный, из кукурузы в смеси с бобовыми и другие виды	6,25
Зерно, мука и отруби из пшеницы, ржи, овса, ячменя	5,83
Зерно кукурузы	6,25
Зерно и жмых из конопли, хлопчатника, подсолнечника, льна, сои	5,30
Зерно бобов, вики	5,70
Комбикорма из зерна и отрубей злаков	5,83
Молоко	6,45
Мясо, рыба	6,25
Кости, мясо-костная мука	6,25
Все прочие растительные и животные продукты	6,25

Коэффициенты переваримости протеина наиболее часто встречающихся кормов (из книги Н. С. Попова, М. Ф. Томмэ, Г. М. Елкина, П. Х. Попандопуло „Корма СССР, состав и питательность“, М., 1944)

Наименование корма	Коэффициент переваримости протеина (%)
Трава пастбищная	
Трава лесного пастбища	47,4
Трава низинного пастбища	68,0
Трава заболоченного пастбища	50,0
Трава суходольного пастбища	72,6
Трава типчакового пастбища	72,0
Трава естественных лугов	
Трава заливного луга	65,0
Отава заливного луга	68,0
Трава лесная в среднем	50,6
Трава луговая (суходольные луга)	68,4
Трава болотная, в среднем	49,1
Трава осоковая	50,0
Трава степная с пырейной залежи	64,0
Трава степная разнотравно-злаковая и злаково-разнотравная	69,5
Трава злаково-полынной степи	69,5
Трава шелковицовой залежи на солончаке	65,5
Камыш зеленый	39,7
Крапива в среднем	76,3
Травы посевные	
а) злаковые:	
Костер безостый	59,4
Кукуруза, в среднем	66
Кукуруза (молочн. спел.)	63
Кукуруза (восков. спел.)	55
Кукуруза в период стравл.	69
Могар, в среднем	58
Овес, в среднем	73,7
Пырей американский, в среднем	55
Рожь озимая, в среднем	70
Тимофеевка, в среднем	52
Ячмень	72
б) бобовые:	
Вика	60
Горох	73
Донник	75
Клевер, в среднем	73,5
Конский боб	49
Люцерна, в среднем	74,4
Соя, в среднем	77
Чина, в среднем	72
Эспарцет, в среднем	65,8

Наименование корма	Коэффициент переваримости протеина (%)
Мешанки	
Вика+овес, в среднем	70,4
Клевер+тимофеевка	61
Овес+горох	74
Ботва	
Ботва картофельная	56
Ботва свеклы сахарной	72,3
Сено естественных лугов	
Сено заливное, в среднем	56,3
Сено лесное, в среднем	40
Сено луговое, в среднем	57
Сено низинное, в среднем	51
Сено степное—житняковое	61
Сено залежное разнотравных злаков	60
Сено пырейное, в среднем	60
Сено целинное мелкое злаково-разнотравное, злаковое	54,5
Сено целинное, злаковое	47
Сено ковыльное, в среднем	55
Сено разнотравное злаковое полынное	51
Сено солончаковой степи, в среднем	46
Сено болотное, в среднем	54
Сено осоковое, в среднем	45
Сено тростниковое, в среднем	39,8
Сено посевных трав:	
а) злаковых	
Сено костра безостого	56,7
Сено овсяное	70
Сено пырейное	54,6
Сено тимофеевки	58
б) бобовых	
Сено виковое	66
Сено донниковое	76,6
Сено клеверное	63
Сено люцерновое	75,6
Сено соевое	69
в) мешанки	
Сено вико-овсяное	56
Сено овес+горох	74
Сено клевер+тимофеевка	54
Сено люцерна+костер	66
Сено многолетних трав, в среднем	56
Солома	
Солома овсяная	34
Солома пшеничная	23
Солома ржаная	19

Наименование корма	Коэффициент переваримости протеина (%)
Силос	
Силос кукурузный, в среднем	56
Силос клеверный	65
Силос вико-овсяный	70
Силос кукуруза+вика	63
Силос кукуруза+соя	67,5
Силос подсолнечниковый	59
Силос из болотных трав	54,4
Силос из сахарной и полусахарной свеклы	66,7
Корнеплоды и клубнеплоды	
Картофель, в среднем	76
Морковь, в среднем	73
Свекла кормовая, в среднем	70
Свекла сахарная, в среднем	79
Зерна и семена злаковых	
Кукуруза, в среднем	75,3
Овес, в среднем	77,7
Пшеница, в среднем	84,3
Рожь озимая, в среднем	83
Ячмень	73,4
Зерна и семена бобовых	
Бобы сухие	87
Вика	88
Горох	86
Кормовая мука разная	
Бобовая мука	87
Виковая мука	83,1
Гороховая мука	86
Овсяная сеяная мука	80
Овсяная грубая	77
Жмых	
Льняной	86
Рыжиковый	83
Соевый	90

ПОДГОТОВКА ПРОБЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОСФОРА, КАЛЬЦИЯ, МАГНИЯ И ХЛОРА

Определение фосфора, кальция и магния проводится в солянокислом растворе золы, полученной после сухого озоления проб кормов, органов и тканей животных.

В прокаленный и взвешенный на аналитических весах тигель берут 1—1,5 г сухого размолотого материала и озоляют в му-

фельной печи при темно-красном калении до получения светло-серой или серой золы без частиц угля. После остывания в эксикаторе тигель взвешивают и находят вес золы. Зола растворяют в 10 мл 25%-ной соляной кислоты и раствор через воронку переносят в мерную колбу на 250 мл. Тигель 3—4 раза споласкивают небольшими порциями дистиллированной воды и сливают в мерную колбу. Раствор в колбе доводят до метки водой и тщательно перемешивают. После отстаивания в полученном растворе определяют фосфор, кальций и магний.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Принцип метода. К определенному объему раствора прибавляют молибденовокислый аммоний. В присутствии сильных восстановителей (метола, гидрохинона, сульфита натрия и др.) образуется комплексное соединение фосфорной кислоты с молибденовокислым аммонием, интенсивность голубой окраски которого пропорциональна содержанию фосфора в растворе.

Ход анализа. В мерную колбу на 100 мл пипеткой берут 10 мл раствора золы. В другую мерную колбу на 100 мл отмеривают стандартный раствор фосфата в количестве 1—24 мл, в зависимости от предполагаемого содержания фосфора в пробе.

В каждую колбу приливают 30—40 мл дистиллированной воды, перемешивают и прибавляют последовательно 2 мл раствора молибденовокислого аммония и 2 мл 2%-ного раствора гидрохинона и снова перемешивают. Через 5 минут добавляют 2 мл 20%-ного раствора сульфита натрия, хорошо перемешивают, доводят объем раствора в колбе до метки и тщательно перемешивают.

Через 15 минут растворы полностью приобретают синюю окраску, интенсивность которой пропорциональна содержанию фосфора в них, и растворы можно колориметрировать.

В левый стаканчик колориметра наливают стандартный, а в правый — исследуемый раствор. Высоту слоя стандартного раствора устанавливают на определенное число делений, высоту слоя исследуемого раствора меняют до получения одинаковой окраски половинок поля зрения (техника колориметрирования подробно описана на стр. 76—79).

Содержание фосфора в исследуемой пробе рассчитывают по формуле:

$$C_p = \frac{C \cdot h \cdot V_1}{h_x \cdot V_2 \cdot m} \text{ г/кг,}$$

где C_p — количество мг фосфора в стандартном растворе (в колбе на 100 мл);

h — высота уровня стандартного раствора в делениях шкалы колориметра;

h_x — высота уровня исследуемого раствора;

V_1 — общий объем раствора золы, мл;

V_2 — объем, взятый для колориметрирования, мл;

m — навеска сухого корма, органа или ткани животного, г.

Более точным является определение фосфора фотоэлектроколориметрическим методом, описание которого приведено на стр. 199—201.

Реактивы. 1. Стандартный раствор фосфата, в 1 мл которого содержится 0,1 мг фосфора: 4,3940 г химически чистого двухзамещенного фосфата калия K_2HPO_4 растворяют в дистиллированной воде и доводят до метки в мерной колбе на 1 л. 25 мл раствора помещают в мерную колбу на 250 мл, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

2. Раствор молибденовокислого аммония:

а) 25 г молибденовокислого аммония растворяют в 300 мл воды; б) 75 мл концентрированной серной кислоты прибавляют к 125 мл воды. Растворы «а» и «б» смешивают.

3. Гидрохинон, 2%-ный раствор.

4. Сульфит натрия, 20%-ный раствор.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

(Методика Левицкого в модификации
А. Т. Усовича)

Принцип метода. При сухом озолении кормов, при температуре 500—550°, содержащаяся в них фосфорная кислота остается в золе в виде солей различных металлов, которые переходят в раствор в результате обработки крепкой соляной кислотой.

Определение основано на том, что при взаимодействии фосфорной кислоты с молибденовокислым аммонием в присутствии сильного восстановителя—хлористого олова—образуется комплексное соединение голубого цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию в растворе фосфорной кислоты.

Ход анализа. 1. В фарфоровом тигле на аналитических весах отвешивают 1 г сухого корма и озоляют в муфельной печи при 450—500° (темно-красное каление печи).

2. Золу растворяют в 10 мл 25%-ной соляной кислоты при нагревании и помешивании стеклянной палочкой. Раствор переносят в мерную колбу на 250 мл, тигель споласкивают 4—5 раз дистиллированной водой и сливают в мерную колбу, после чего раствор в колбе доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

3. Пипеткой берут 5 мл раствора в мерную колбу на 100 мл, прибавляют примерно на $\frac{3}{4}$ объема воды, взбалтывают, добавляют 2,5 мл сульфат-молибденового раствора и снова перемешивают.

4. К раствору прибавляют 7 капель 1%-ного раствора хлористого олова, перемешивают, доводят объем до 100 мл водой, тщательно встряхивают и оставляют стоять на 10 минут, появляется голубое или синее окрашивание.

5. Оптическую плотность раствора измеряют на фотоэлектророклориметре ФЭК-М (или ФЭКН-57) с применением красного светофильтра и затем при помощи калибровочной кривой рассчитывают содержание фосфора, в г/кг, в пробе корма.

Построение калибровочной кривой. Стандартным является раствор однозамещенного фосфата калия KH_2PO_4 , в 1 мл которого содержится 0,005 мг фосфора.

1. Берут 6 мерных колб на 100 мл, нумеруют их по порядку и в каждую из них вносят из бюретки определенные количества мл стандартного раствора, указанные в таблице:

Номера мерных колб на 100 мл	1	2	3	4	5	6
Количество миллилитров стандартного раствора	1	2	8	14	20	26
Количество миллиграммов фосфора в 1000 мл S_x	0,005	0,01	0,04	0,07	0,10	0,13

2. В колбы доливают дистиллированную воду до 75—80 мл, после чего раствор перемешивают.

3. В каждую колбу прибавляют по 2,5 мл сульфат-молибденового раствора, перемешивают, добавляют по 7 капель 1%-ного раствора хлористого олова, снова перемешивают, доводят объем до метки водой и оставляют стоять на 10 минут.

4. Измеряют оптическую плотность полученных растворов с применением красного светофильтра, имеющего область пропускания 650—750 $m\mu$.

5. Строят калибровочную кривую на миллиметровой бумаге, откладывая на оси ординат оптическую плотность D , а на оси абсцисс — количество мг фосфора в 100 мл фотометрируемого раствора S_x .

6. Содержание фосфора, г/кг, в пробе корма рассчитывают по формуле:

$$C_p = \frac{50 \cdot C_x}{m},$$

где C_x — количество миллиграммов фосфора в 100 мл раствора, найденное по калибровочной кривой;

m — навеска сухого корма, г;

50 — числовой коэффициент, который получился в результате учета общего объема раствора и объема, взятого для анализа, и пересчета данных на 1 кг сухого корма в граммах.

Реактивы. 1. Основной стандартный раствор однозамещенного фосфата калия. Навеску 0,4394 г химически чистого KH_2PO_4 растворяют в дистиллированной воде и объем доводят до 1 л в мерной колбе.

Для получения рабочего стандартного раствора пипеткой берут 50 мл основного раствора и разбавляют в мерной колбе на 1 л. В 1 мл такого раствора содержится 0,005 мг фосфора.

2. Соляная кислота 25%-ная. 635 мл соляной кислоты уд. веса 1,19 доводят водой до 1 л.

3. Сульфат-молибденовый раствор. Смешивают равные объемы профильтрованного 10%-ного раствора молибденовокислого аммония и концентрированной серной кислоты (уд. вес 1,84).

4. Хлористое олово, 1%-ный раствор. 0,25 г мелко раздробленного металлического олова аналитической квалификации помещают в коническую колбу, на которой отмечен объем 25 мл, приливают 5 мл HCl (уд. вес 1,19) и 2 капли 10%-ного раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Колбу закрывают пробкой с клапаном Бунзена и нагревают на песчаной бане до растворения олова. После охлаждения раствор доводят до 25 мл дистиллированной водой, переливают в оранжевую склянку с притертой стеклянной пробкой и сохраняют на холоду в темном месте. Раствор может сохраняться 4—5 дней.

5. Сернокислая медь (медный купорос), 10%-ный раствор.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА В КОРМАХ, ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ (по А. Т. Усовичу)

Принцип метода. При взаимодействии фосфорной кислоты с молибденовокислым аммонием получается фосформолибденовая кислота $\text{H}_6[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]$, которая при действии восстановителей образует окрашенные в синий цвет соединения. Оптическая плотность полученных растворов пропорциональна содержанию фосфора.

По измеренной на фотоколориметре оптической плотности полученных растворов (с применением красного светофильтра, $\lambda = 650$ мкм) с помощью калибровочной кривой рассчитывают содержание фосфора в исследуемой пробе.

Ход анализа. 1. В муфельной печи озоляют в фарфоровом тигле 1 г сухой пробы исследуемого материала при 450—550° до получения серой или светло-серой золы.

2. Золу растворяют в 6 мл 25%-ной соляной кислоты, раствор (без фильтрования) переносят в мерную колбу на 250 мл, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

3. После отстаивания отмеривают пипеткой 10 мл раствора в мерную колбу на 100 мл, приливают 30—40 мл дистиллиро-

ванной воды и перемешивают. Затем последовательно добавля-
ют 2 мл раствора молибденовокислого аммония и 2 мл 2%-ного
раствора гидрохинона.

4. Через 5 минут прибавляют 2 мл 20%-ного раствора суль-
фита натрия, перемешивают, доводят до метки дистиллирован-
ной водой и снова перемешивают.

5. По истечении 15 минут измеряют оптическую плотность D
на фотоколориметре в кювете с расстоянием между рабочими
гранями 10 мм, применяя красный светофильтр ($\lambda = 650$ —
700 мкм). Затем на калибровочной кривой находят содержание
фосфора (в г/кг) в исследуемой пробе.

Для пересчета на натуральную влажность результат опреде-
ления умножают на коэффициент пересчета $K_r = \frac{100 - x}{100}$,

где x — процент влаги.

Построение калибровочной кривой. Для построе-
ния калибровочной кривой берут 6 мерных колб на 100 мл и в
каждую из них вносят определенный объем рабочего стандарт-
ного раствора (0,05 мгР/мл), руководствуясь таблицей:

Номера мерных колб на 100 мл	1	2	3	4	5	6
Количество миллилитров рабочего стандартного раствора	1	2	4	6	8	10
Содержание фосфора в г/кг в су- хой пробе	1,25	2,50	5,0	7,50	10,0	12,50

Во все колбы доливают дистиллированной воды до объема
50—60 мл, 2 мл раствора молибденовокислого аммония, 2 мл
2%-ного раствора гидрохинона. Через пять минут прибавляют
по 2 мл 20%-ного сульфита, доводят до метки дистиллирован-
ной водой, перемешивают и через 15 минут измеряют оптиче-
скую плотность полученных растворов. Затем на миллиметро-
вой бумаге строят калибровочный график, откладывая на оси
ординат значения оптической плотности D , а на оси абсцисс —
отвечающие им концентрации фосфора в г/кг (последняя строка
таблицы).

Рекомендуется следующий масштаб: 0,01 D соответствует
4 мм по оси ординат и 0,1 гР/кг — 2 мм по оси абсцисс.

Реактивы: 1. Основной стандартный раствор однозаме-
щенного фосфата калия KH_2PO_4 : 4,3940 г реактива марки
«х. ч.» растворяют в мерной колбе на 1 литр в 0,18 н HCl . В
одном миллилитре раствора содержится 1 мг фосфора.

2. Рабочий стандартный раствор: 25 мл основного раствора
разбавляют 0,18 н HCl в мерной колбе на 500 мл. 1 мл раство-
ра содержит 0,05 мг фосфора. Этот раствор используют при по-
строении калибровочной кривой.

3. Раствор молибденовокислого аммония (марки «х. ч.»); а) 25 г молибденовокислого аммония растворяют в 300 мл дистиллированной воды; б) 75 мл концентрированной серной кислоты (уд. вес 1,84) марки «х. ч.» осторожно вливают в 125 мл дистиллированной воды. Растворы (а) и (б) смешивают и применяют после отстаивания.

4. Гидрохинон, 2%-ный раствор: к 2 г гидрохинона прибавляют 98 мл дистиллированной воды и 1 каплю концентрированной серной кислоты. Раствор неустойчив, сохраняется 2—3 дня (в оранжевой склянке).

5. Сульфит натрия, 20%-ный раствор: к 20 г безводного реактива прибавляют 80 мл дистиллированной воды. Сохраняется 5—6 дней (в оранжевой склянке).

6. Соляная кислота HCl , 25%-ная: 635 мл концентрированной HCl (уд. вес 1,19) помещают в мерную колбу на 1 литр и доводят до метки дистиллированной водой.

7. Соляная кислота, 0,18 н: 15 мл концентрированной HCl (уд. вес 1,19) разбавляют дистиллированной водой в мерной колбе на 1 литр.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ ОБЪЕМНЫМ МЕТОДОМ

Принцип метода. В определенном объеме солянокислого раствора, полученного после сухого озоления пробы, нейтрализованного и подкисленного затем уксусной кислотой, кальций осаждают насыщенным раствором щавелевокислого аммония. Осадок оксалата кальция отмывают от примесей и избытка осадителя и растворяют в горячей 10%-ной серной кислоте. Выделившуюся при этом щавелевую кислоту оттитровывают раствором перманганата калия, по количеству которого рассчитывают содержание кальция в пробе корма.

Ход анализа. 1. В стакан или коническую колбу на 250 мл пипеткой берут 25 мл раствора, полученного после растворения золы, прибавляют 3 капли индикатора метилроta и нейтрализуют раствор 10%-ным аммиаком до перехода розовой окраски в желтую, затем раствор вновь подкисляют 10%-ной уксусной кислотой до появления розовой окраски.

2. Раствор нагревают до кипения и прибавляют 25 мл горячего насыщенного 4%-ного раствора оксалата аммония. Для полноты осаждения раствор оставляют стоять на ночь.

3. Осадок кальция фильтруют через беззольный фильтр «синяя лента» и промывают водой до удаления следов иона хлора. После 5—6 промываний под воронку подставляют пробирку и собирают 1—2 мл промывных вод, затем добавляют 1 каплю 1%-ного раствора азотнокислого серебра, подкисленного HNO_3 . Отсутствие мутн указывает на окончание промывания.

4. Фильтр с осадком помещают в ту колбу, где проводилось осаждение, и растворяют осадок кальция в 15 мл 10%-ной серной кислоты (предварительно нагретой). Воронку споласкивают небольшим количеством воды и сливают в колбу, в которой находится фильтр.

5. Раствор нагревают до 70—80° и титруют 0,05 н раствором KMnO_4 до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 минуты.

6. Содержание кальция, г/кг, во взятой для анализа пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot K \cdot 0,001 \cdot 250 \cdot 1000}{25 \cdot m},$$

где a — количество миллилитров 0,05 н раствора KMnO_4 , израсходованного на титрование;

K — поправка к титру для раствора перманганата KMnO_4 ;

250 — общий объем раствора, полученного после растворения золы;

25 — объем раствора, взятый для анализа;

0,001 — коэффициент пересчета на кальций: 1 мл 0,05 н раствора KMnO_4 соответствует 0,001 г кальция;

m — навеска корма, г.

Реактивы. 10%-ный раствор соляной кислоты; 10%-ный раствор серной кислоты; 10%-ный раствор аммиака; 10%-ный раствор уксусной кислоты; насыщенный, 4%-ный раствор щавелевокислого аммония (оксалата аммония); 0,05 н раствор перманганата калия KMnO_4 .

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА, КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ В КОСТЯХ

(метод сухого озоления)

Взятие средней пробы кости. Кость освобождают от мышц и сухожилий, взвешивают. Затем ее продольно распиливают, трубчатую кость — по всей длине, отпиливая головки (губчатая часть). Каждую из трех частей (2 головки и трубчатая часть) распиливают на 4 части.

Для исследования берут примерно $\frac{1}{4}$ часть трубчатой кости, по $\frac{1}{4}$ части от веса головок кости. Если кости крупные, пробы делят на две или четыре равные части.

Для сжигания берут среднюю навеску кости 15—20 г и помещают в прокаленный и взвешенный большой тигель. Сначала кость обугливают на электроплитке с асбестовой сеткой или в колбонагревателе до тех пор, пока она не перестанет дымить. После этого тигель помещают в муфельную печь и прокаливают при темно-красном калении 1,5—2 часа.

Зола после сжигания кости должна быть светло-серого или белого цвета, без примеси частиц угля.

Структура костной ткани сохраняется, но она становится рассыпчатой. После остывания тигель переносят в эксикатор, а затем взвешивают на аналитических весах и определяют вес зольного остатка. После этого его измельчают в однородную массу в фарфоровой ступке и переносят в бумажный пакет для хранения. Пакеты с золой хранят в эксикаторе или в стеклянных банках с притертой пробкой.

Для исследования минеральных веществ в костях берут около 1 г их зольного остатка, взвешенного на аналитических весах в прокаленном и заранее взвешенном тигле.

Навеску растворяют в 10 мл 25%-ного раствора HCl при помешивании стеклянной палочкой. Затем содержимое тигля переносят в мерную колбу на 250 мл, тигель 4—5 раз споласкивают и сливают в колбу. Объем в колбе доводят водой до метки.

Содержимое колбы хорошо перемешивают и, когда осядет осадок на дно колбы, можно определять в пробе содержание кальция, фосфора, магния и других макро- и микроэлементов так же, как при анализе кормов и кала.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАГНИЯ ОБЪЕМНЫМ МЕТОДОМ

Принцип метода. В фильтрате после осаждения кальция, подкисленном соляной кислотой, магнией, осаждают двухзамещенным фосфатом натрия в аммиачной среде. Осадок отмывают от примесей, избытка осадителя и растворяют в 0,1 н растворе соляной кислоты. После этого избыток кислоты оттитровывают 0,1 н раствором NaOH и по разности рассчитывают содержание магния в пробе корма.

Ход анализа. 1. Фильтрат и промывные воды (в колбе на 250 мл) после отделения кальция выпаривают до объема 100 мл, если это необходимо.

2. Раствор подкисляют 10%-ной соляной кислотой по каплям с применением индикатора — 1%-ного спиртового раствора метилроta до появления розовой окраски.

3. К раствору для осаждения магния прибавляют 15 мл 10%-ного раствора двухзамещенного фосфорнокислого натрия — Na_2HPO_4 и 10%-ного раствора аммиака в количестве, равном $\frac{1}{3}$ общего объема (на 100 мл раствора добавляется 35 мл раствора аммиака).

4. Смесь перемешивают и оставляют до следующего дня, чтобы полностью осадить магний.

5. Раствор фильтруют через беззольный фильтр «синяя лента» или обработанный кипящей дистиллированной водой фильтр «белая лента», не взмучивая осадка в колбе.

6. Осадок магния промывают 2,5%-ным раствором аммиака (методом декантации) так же, как описано фильтрование при определении кальция, и раствор сливают на фильтр, не допуская перенесения осадка.

7. Промывают до исчезновения муты, что проверяется по 1%-ному водному раствору азотнокислого серебра: в пробирку с раствором AgNO_3 вносят несколько капель из воронки, если при этом раствор становится мутным, промывание продолжают.

8. После промывания воронку с фильтром помещают в колбу, где производилось осаждение магния.

9. Колбу вместе с фильтром переносят в сушильный шкаф и сушат при $50-60^\circ$ в течение 1,5 часа до удаления запаха аммиака из колбы и фильтра.

10. После высушивания воронку удаляют, а фильтр с осадком помещают в колбу, в которой производилось осаждение магния и растворяют в 25 мл 0,1 н раствора соляной кислоты.

11. Осадок растворяют при тщательном перемешивании, а затем прибавляют 3 капли метилоранжа и избыток оттитровывают 0,1 н раствором едкого натра до перехода розовой окраски в желтую.

Содержание магния, г/кг, сухого вещества рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(aK_1 - bK_2) \cdot 0,001216 \cdot V_1 \cdot 1000}{m \cdot V_2},$$

где a — количество миллилитров 0,1 н HCl , взятое для растворения осадка магния;

b — количество 0,1 н NaOH , израсходованное на титрование избытка 0,1 н HCl ;

K_1 и K_2 — поправочные коэффициенты для 0,1 н HCl и 0,1 н NaOH ;

V_1 — объем раствора золы, мл;

V_2 — объем, взятый для анализа, мл;

m — навеска воздушно-сухого корма, г;

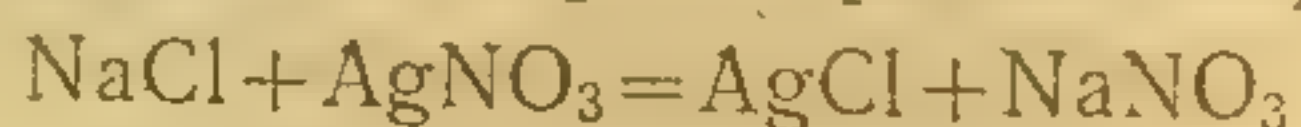
0,001216 — означает следующее: 1 мл 0,1 н HCl соответствует 0,001216 г магния.

Если в формулу подставить числовые значения объемов и объединить числовые коэффициенты, можно получить более удобную для расчетов рабочую формулу:

$$X = \frac{(aK_1 - bK_2) \cdot 0,001216 \cdot 250 \cdot 1000}{25 \cdot m} = \frac{12,16(aK_1 - bK_2)}{m} \text{ г/кг.}$$

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРА (по методу Фольгарда)

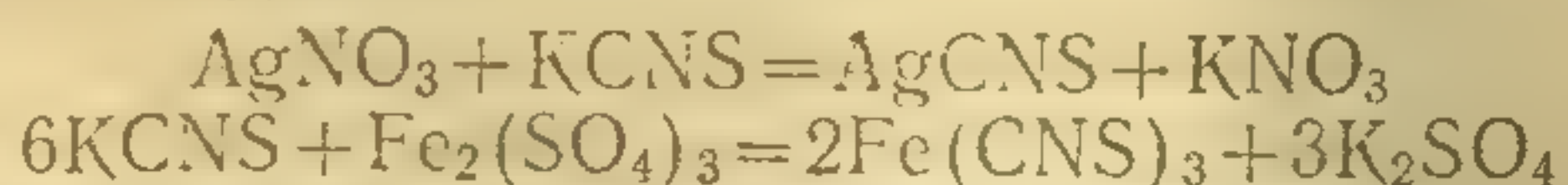
Принцип метода состоит в минерализации исследуемого корма в присутствии избытка азотнокислого серебра, которое образует с хлористыми солями нерастворимое хлористое серебро.



Не вошедшее в реакцию азотнокислое серебро оттитровывается обратно роданистым аммонием или роданистым калием в присутствии железо-аммиачных квасцов как индикатора.

Роданистый калий реагирует с окисным железом только по-

сле осаждения всего избытка серебра и образует окрашенное в красный цвет соединение.



По разности между первоначально прилитым количеством AgNO_3 и его избытком, оттитрованным раствором роданистого калия, находят количество AgNO_3 , израсходованное на образование осадка AgCl , откуда вычисляют количество хлора.

Ход определения. К 2—3 г корма прибавляют 15—20 мл концентрированной азотной кислоты уд. веса 1,40 и 25 мл 0,05 н раствора азотнокислого серебра. Смесь кипятят 10 минут, отфильтровывают нерастворившийся осадок и промывают водой до исчезновения в промывных водах реакции на серебро с соляной кислотой. Фильтрат, содержащий избыток азотнокислого серебра, оттитровывают на холоду 0,05 н раствором роданистого аммония в присутствии 2—3 мл насыщенного раствора железо-аммиачных квасцов.

Содержание хлора в процентах рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(aK_1 - bK_2) \cdot 0,00177 \cdot 100}{m},$$

где a — количество мл 0,05 н AgNO_3 , взятое для осаждения хлора;

b — количество мл 0,05 н раствора роданистого аммония, израсходованное на титрование избытка 0,05 н AgNO_3 ;

0,00177 — коэффициент для пересчета на хлор (1 мл 0,05 н AgNO_3 соответствует 0,00177 г хлора);

K_1 и K_2 — поправка к титру для 0,05 н AgNO_3 и 0,05 н NH_4CNS ;

m — навеска воздушно-сухого корма, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАГНИЯ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ С ПОМОЩЬЮ ТИТАНОВОГО ЖЕЛТОГО

Принцип метода. Определение основано на том, что при взаимодействии красителя титанового желтого с ионами магния образуется адсорбционное соединение красного цвета, интенсивность которого пропорциональна содержанию магния в растворе. Оптическую плотность окрашенного раствора измеряют на фотоколориметре с применением зеленого светофильтра (540 $m\mu$) и с помощью калибровочной кривой находят содержание магния в исследуемой пробе.

Ход анализа. 1. В мерную колбу на 100 мл пипеткой берут 10 мл раствора, полученного после сухого озоления пробы корма.

2. Мерным цилиндром приливают 70 мл дистиллированной воды и перемешивают раствор.

3. Пипеткой к раствору прибавляют 2 мл раствора титанового желтого, мерным цилиндром добавляют 5 мл 1 н раствора едкого натра и снова перемешивают.

4. Раствор в колбе доливают до метки водой, тщательно перемешивают и через 5—6 минут измеряют оптическую плотность D на фотоколориметре, пользуясь зеленым светофильтром с эффективной длиной волны λ , равной 540 $m\mu$.

5. На калибровочной кривой по величине оптической плотности находят содержание магния в 100 мл фотометрируемого раствора.

6. Содержание магния, г/кг сухого корма, рассчитывают по формуле:

$$C_{Mg} = \frac{25 \cdot C_x}{m},$$

где C_{Mg} — содержание магния в 100 мл раствора, подготовленного для фотоколориметрирования;

m — навеска сухого корма, г.

Построение калибровочной кривой. Стандартным является раствор $MgSO_4 \cdot H_2O$, в 1 мл которого содержится 0,01 мг магния.

В 5 мерных колб на 100 мл вносят определенные количества миллилитров стандартного раствора по таблице:

Номера мерных колб на 100 мл	1	2	3	4	5
Количество миллилитров стандартного раствора	2	4	8	16	24
Содержание Mg в 100 мл, мг	0,02	0,04	0,08	0,16	0,24

Объем каждого раствора дополняют до 70 мл дистиллированной водой, а затем последовательно прибавляют 0,4 мл 25%-ной соляной кислоты, 2 мл раствора титанового желтого и 5 мл едкого натра. После каждого прибавления раствор перемешивают и лишь затем приливают следующий реактив. Растворы в колбах доливают до метки водой, тщательно перемешивают и через 5—6 минут измеряют оптическую плотность каждого раствора с зеленым светофильтром. Затем строят калибровочную кривую, откладывая на оси ординат оптическую плотность D , а на оси абсцисс — содержание магния в 100 мл раствора.

Реактивы. 1. Титановый желтый, 0,1%-ный раствор: 0,1 г красителя растворяют в воде, которую добавляют до метки в мерной колбе на 100 мл.

2. Соляная кислота, 25%-ная: 635 мл концентрированной HCl марки «х. ч.» вносят в мерную колбу на 1 л и доводят до метки дистиллированной водой.

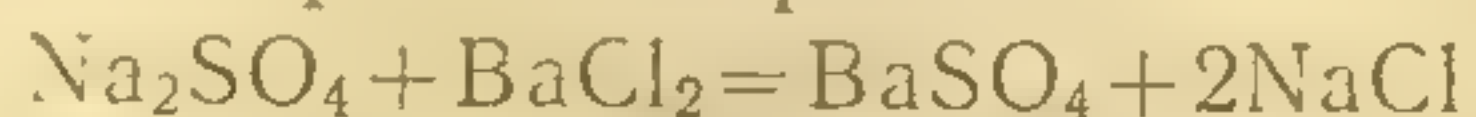
3. Натр едкий, 1 н: 40 г NaOH марки «х. ч.» растворяют в дистиллированной воде и доливают до метки в мерной колбе на 1 л.

4. Основной стандартный раствор магния: 1,0135 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ квалификации «х. ч.» растворяют в мерной колбе на 1 л. 1 мл раствора содержит 0,1 мг магния.

5. Рабочий стандартный раствор: 100 мл основного раствора разбавляют до 1 л в мерной колбе. 1 мл раствора содержит 0,01 мг магния.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРЫ (по Бенедикту-Денису)

Принцип метода заключается в том, что при окислении органической части корма раствором смеси солей хлористого натрия, азотнокислого аммония и азотнокислой меди все содержащиеся в нем соединения серы переходят в сернокислые соли, которые затем осаждаются хлористым барием.



Ход анализа. Навеску вещества около 1 г тщательно смешивают в тигле с 15 мл реактива Бенедикта (100 г хлористого натрия, 100 г азотнокислого аммония и 250 г азотнокислой меди в литре дистиллированной воды).

Тигель постепенно нагревают в сушильном шкафу до 160—180°. Корочки, образующиеся на стенках тигля, сбрасывают стеклянной палочкой в жидкую часть. После высушивания тигель с осадком прокалывают в муфеле 30 минут. Озоление, сопровождающееся выделением бурных паров, надо вести осторожно, чтобы вещество не выбрасывалось.

После озоления остаток растворяют в 30 мл 5%-ного раствора соляной кислоты. Тигель нагревают на электроплитке или песчаной бане до тех пор, пока все черные частички не растворятся, после чего фильтруют через маленький фильтр и промывают водой фильтр несколько раз. Фильтрат нагревают до кипения (объем жидкости не более 240—300 мл) и приливают 50 мл 1%-ного раствора хлористого бария, также нагретого до кипения.

Перемешивают, дают осадку постоять в теплом месте не менее 12 часов и отфильтровывают сернокислый барий через плотный фильтр. Осадок промывают сначала 4 раза, а потом на фильтре до исчезновения в промывных водах реакции на барий (проба с H_2SO_4). Фильтр с осадком сернокислого бария высушивают, прокалывают до постоянного веса, взвешивают и находят вес осадка $BaSO_4$. Он находится по разности между весом тигля с прокаленным осадком и весом пустого тигля.

Содержание серы в процентах рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 0,1374 \cdot 100}{m},$$

где a — вес осадка BaSO_4 , г;
0,1374 — коэффициент для пересчета веса осадка BaSO_4
на серу;
 m — навеска воздушно-сухого вещества, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА В КОРМАХ, ОРГАНАХ, ТКАНЯХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ (по А. Т. Усовичу)

Принцип метода. К определенному объему раствора, полученного после сухого озоления биологических материалов, прибавляют роданистый аммоний. При этом раствор приобретает красную окраску: образуется комплексный роданид трехвалентного железа. Интенсивность окраски зависит от содержания железа в растворе. Так как определение проводится в солянокислой среде, то для того чтобы избежать ослабления окраски, применяют избыток роданистого аммония.

Методика требует обязательного перевода железа в трехвалентную форму, что достигается обработкой раствора золью 30%-ной перекисью водорода. Техника сухого озоления проб и получения раствора золью описана в разделе «Подготовка проб биологических материалов к определению некоторых микроэлементов (железа, меди и цинка) полярографическим методом».

Методика отличается простотой выполнения анализов и высокой производительностью. За рабочий день (6 часов) можно выполнить 50—60 определений в подготовленных растворах золь биологических материалов.

Ход анализа. 1. Микропипеткой берут 1 мл солянокислого раствора золь, прибавляют 1 мл 5%-ного раствора роданистого аммония и перемешивают.

2. Раствор переливают в кювету фотоколориметра с расстоянием между гранями 5 мм (емкость 2 мл) и сразу же измеряют оптическую плотность раствора D с применением синего светофильтра.

3. По калибровочной кривой находят количество миллиграммов железа в 100 мл раствора (величину C_x), а затем рассчитывают содержание железа в исследуемых материалах по формулам.

А. Для кормов, органов и тканей животных:

$$X = \frac{10 \cdot C_x \cdot V_2 \cdot V_3}{m \cdot V_1},$$

где X — содержание железа, мг в 1 кг сухого вещества;
 V_1 — объем раствора золь, взятый для определения;
 V_2 — объем фотоколориметрируемого раствора;
 V_3 — общий объем солянокислого раствора золь;

m — навеска воздушно-сухой пробы корма, органа или ткани животного, г;

10 — коэффициент, полученный в результате деления 1000 г на объем стандартного раствора (100 мл).

Б. Для сыворотки крови животных:

$$X = \frac{C_x \cdot V_2 \cdot V_4}{V_1 \cdot V_3},$$

где X — содержание железа в пробе сыворотки, крови, мг %;

V_1 — объем раствора золы, взятый для определения;

V_2 — объем сыворотки крови, взятый для сухого озоления;

V_3 — объем фотоколориметрируемого раствора;

V_4 — общий объем солянокислого раствора золы.

В связи с тем, что определения проводятся по единой схеме с одними и теми же величинами, можно после подстановки числовых значений получить удобные для расчетов рабочие формулы.

А. Для кормов, органов и тканей животных:

$$X = 100 \times C_x \text{ мг/кг.}$$

Б. Для сыворотки крови животных:

$$X = 5 C_x \text{ мг \%}$$

Построение калибровочной кривой. 1. Берут 12 мерных колб на 100 мл и в каждую из них вносят 30 мл дистиллированной воды, 10 мл 25%-ного раствора роданистого аммония.

2. После этого в колбы (из бюретки) прибавляют определенные количества миллилитров рабочего стандартного раствора (с содержанием 0,01 мг железа в 1 мл), руководствуясь следующей таблицей:

Номера мерных колб на 100 мл	Количество миллилитров рабочего стандартного раствора	Количество миллиграммов железа в 100 мл C_x
1	0,4	0,004
2	0,8	0,008
3	1,2	0,012
4	1,6	0,016
5	2,0	0,020
6	4,0	0,040
7	6,0	0,060
8	8,0	0,080
9	10,0	0,100
10	20,0	0,200
11	40,0	0,400
12	60,0	0,600

3. Колбы доливают до метки дистиллированной водой и сразу же измеряют оптическую плотность раствора на фотоколориметре в кювете с расстоянием между гранями 5 мм, применяя синий светофильтр.

4. На миллиметровой бумаге строят калибровочную кривую, откладывая в определенном масштабе на оси ординат оптическую плотность D , а на оси абсцисс — количество миллиграммов железа в 100 мл раствора, т. е. величину Sx .

Реактивы. 1. Соляная кислота концентрированная марки «х. ч.», очищенная от примесей железа перегонкой. Простой способ холодной перегонки HCl описан на стр. 221. При этом получается 25%-ная HCl . Для пересчета объема 37,2%-ной на 25%-ную кислоту объем последней следует умножить на $\frac{37,2}{25} = 1,49$.

2. Аммоний роданистый NH_4CNS («х. ч.»), 25%-ный раствор: к 25 г NH_4CNS прибавляют 75 мл дистиллированной воды.

3. Аммоний роданистый NH_4CNS , 5%-ный раствор: к 5 г прибавляют 95 мл воды.

4. Стандартный раствор железо-аммонийных квасцов $(NH_4)_2SO_4 \cdot Fe_2(SO_4)_3 \cdot 24H_2O$.

А. Основной раствор. На аналитических весах отвешивают 1,7268 г железо-аммонийных квасцов. Берут мерную колбу на 1 л, вливают в нее 100—150 мл дистиллированной воды, 8,3 мл концентрированной HCl уд. вес 1,19 (37,2%-ная HCl) и вносят навеску. После растворения навески прибавляют до метки воду и хорошо перемешивают.

Б. Рабочий стандартный раствор. 50 мл основного раствора (отмеривают пипеткой или бюреткой) вносят в мерную колбу на 1 л, прибавляют 7,8 мл концентрированной соляной кислоты уд. веса 1,19 и доводят до метки водой. 1 мл раствора содержит 0,01 мг железа.

Если железо-аммонийных квасцов нет, то стандартный раствор можно приготовить из сернокислого закисного железа $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ марки «х. ч.».

А. Основной раствор. На аналитических весах отвешивают 1 г сернокислого железа $FeSO_4 \cdot H_2O$ (следует брать невыветрившиеся голубовато-зеленые кристаллы). Навеску помещают в стакан на 100—150 мл, прибавляют 25 мл дистиллированной воды, 8,3 мл концентрированной HCl и нагревают до растворения навески. После этого для окисления железа прибавляют 1 мл 30%-ной перекиси водорода и снова нагревают до прекращения выделения пузырьков кислорода. После остывания раствор через воронку переливают в мерную колбу на 1 л. Стакан споласкивают 4—5 раз водой и сливают в колбу. Раствор доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

Б. Рабочий стандартный раствор. Пипеткой или бюреткой отмеривают 50 мл основного раствора в мерную колбу на 1 л, прибавляют 7,8 мл концентрированной HCl , доливают до метки водой и хорошо перемешивают. 1 мл рабочего раствора содержит 0,01 мг железа.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В КОРМАХ, ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ

Определение некоторых микроэлементов колориметрическим методом, разработанным в институте биологии Латвийской академии наук.

Принцип метода. Для количественного определения микроэлементов в окрашенных соединениях, полученных в процессе анализа, используются серии стандартных эталонов в виде специальных шкал.

В связи с тем, что цветные шкалы, приготовленные из стандартных растворов микроэлементов, сравнительно неустойчивы, вместо них пользуются имитирующими шкалами из растворов окрашенных минеральных солей.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ШКАЛ ИЗ ЦВЕТНЫХ РАСТВОРОВ МИНЕРАЛЬНЫХ СОЛЕЙ

Медь. Шкала для определения Cu готовится из следующих растворов.

- 1) 20 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ растворяют и доводят водой до 100 мл;
- 2) 9,5 г $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворяют и доводят водой до 100 мл;
- 3) 0,1 г $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ растворяют и доводят водой до 100 мл.

Определенное количество этих исходных растворов (табл. 1) наливают в серию одинаковых пробирок (диаметром 15 мм), доливают водой до 10 мл, взбалтывают и хорошо закрывают пробками.

Таблица 1

Количество исходных растворов минеральных солей (мл)
для приготовления шкалы

Растворы	Нумерация шкалы						
	0	1	2	3	4	5	6
1	7,0	6,2	5,4	4,6	3,8	3,0	2,2
2	0,7	1,2	1,7	2,2	2,7	3,2	3,7
3	2,0	1,7	1,4	1,1	0,8	0,5	0,2
$\text{Cu} \mu\text{мл}$	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6

Цинк. Шкалу для определения цинка готовят аналогичным образом из тех же растворов, что и для меди (табл. 2).

Марганец. Шкала для определения марганца готовится из следующих реактивов:

Таблица 2

Количество исходных растворов минеральных солей (мл)
для приготовления шкалы

Растворы	Нумерация шкалы						
	0	1	2	3	4	5	6
1	7,0	6,3	5,6	4,9	4,2	3,5	2,3
2	0,7	1,3	1,9	2,5	3,1	3,7	4,3
3	2,0	1,6	1,2	0,8	0,4	0,2	0,0
Zn γ'мл	0,0	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3

1) 200 г HPO_3 растворяют в 120 мл дистиллированной воды при нагревании, часто помешивая. Затем раствор кипятят 3 минуты, охлаждают и доводят водой до 145 мл;

2) 1,0 г $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и 0,30 г $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ растворяют в 15 мл воды, добавляют 70 мл раствора метафосфорной кислоты (1), кипятят 3 минуты и после охлаждения доводят водой до 70 мл.

Исходные растворы смешивают в пробирках (диаметром 15 мм) в следующих количествах (табл. 3)

Таблица 3

Количество исходных растворов (мл) для приготовления шкалы

Растворы	Нумерация шкалы									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	9,5	9,0	8,0	7,0	6,0	5,0	4,0	3,0	2,0	1,0
2	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
Mn γ/мл	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0

Смесь растворов в пробирках тщательно взбалтывают и закрывают пробками. Из-за большой концентрации метафосфорной кислоты исходные растворы при комнатной температуре находятся в вязком состоянии, при приготовлении шкалы их нужно подогреть.

Бор. Шкала для определения бора также готовится из растворов минеральных солей в метафосфорной кислоте. Необходимы следующие растворы:

1) 200 г HPO_3 растворяют в 120 мл воды и далее поступают так же, как и при приготовлении шкалы для определения марганца;

2) 7,0 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 15 мл воды, добавляют 75 мл раствора метафосфорной кислоты (1), кипятят 3 минуты и после охлаждения доводят водой до 75 мл;

3) 3 г $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 15 мл воды, добавляют 75 мл метафосфорной кислоты (1), кипятят 3 минуты и после охлаждения доводят раствор водой до 75 мл.

Еще теплые растворы смешивают в определенных количествах (табл. 4), взбалтывают, доливают водой до 10 мл и закрывают пробирки пробками.

Таблица 4

Количество исходных растворов минеральных солей (мл)
для приготовления шкалы

Растворы	Нумерация шкалы								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
1	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
2	1,3	1,5	1,7	1,9	2,1	2,3	2,5	2,7	2,9
3	2,8	2,7	2,6	2,5	2,4	2,3	2,2	2,1	2,0
В г/мл	0,0	0,5	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4

Кобальт. Шкала для определения кобальта готовится из следующих растворов:

1) 0,1 г $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ растворяют в дистиллированной воде и доводят раствор до 100 мл;

2) 3,8 г $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворяют в воде и доводят до 100 мл.

Растворы смешивают в следующих соотношениях (табл. 5).

Все пробирки доливают дистиллированной водой до 10 мл, взбалтывают и закрывают.

Молибден. Шкалу для определения молибдена готовят из следующих растворов:

1) 0,1 г $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ растворяют в дистиллированной воде и доводят объем до 100 мл;

2) 9,5 г $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ растворяют в воде и объем доводят до 100 мл.

Таблица 5

Количество исходных растворов минеральных солей (мл)
для приготовления шкалы

Растворы	Нумерация шкалы									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1,10	1,15	1,30	1,45	1,60	1,75	1,90	2,05	2,20	2,35
2	0,0	0,2	0,6	1,0	1,4	1,8	2,2	2,6	3,0	3,4
Со γ/мл	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9

Из приготовленных растворов составляют следующую смесь: к 10 мл первого раствора приливают 6,5 мл второго раствора и 100 мл воды. Из этой смеси и дистиллированной воды готовят шкалу, как указано в таблице 6.

Пробирки с растворами взбалтывают и тщательно закрывают пробками.

Таблица 6

Количество смешанного раствора (мл)
и дистиллированной воды для приготовления шкалы

Растворы	Нумерация шкалы					
	1	2	3	4	5	6
Смесь	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0
Дист. H ₂ O	5,0	4,0	3,0	2,0	1,0	0,0
Мо γ/мл	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2

При определении любого микроэлемента необходимо предварительно проделать «холостой» анализ, чтобы учесть содержание соответствующих элементов в реактивах и химической посуде. При этом проделывают весь ход анализа согласно прописи, только без прибавления анализируемого раствора. Очень важным условием является очистка реактивов от следов микроэлементов (способы очистки смотри ниже). Используемую при анализах посуду тщательно моют раствором $K_2Cr_2O_7$ в концентрированной серной кислоте, затем промывают в проточной и несколько раз в дистиллированной воде.

Вода для химических анализов на микроэлементы применяется только дважды перегнанная: первый раз обычным способом, второй — с марганцовокислым калием. Аппарат для перегонки воды должен быть из невыщелачиваемого стекла. Металлические и резиновые части не допускаются.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕДИ ПО СТАНДАРТНОЙ ШКАЛЕ

Из фильтрата, полученного после сжигания вещества, берут в пробирку (диаметром 15 мм) с притертой пробкой определенное количество раствора, соответствующее 0,5 г растительного материала (см. стр. 222 — подготовка биологических материалов к определению некоторых микроэлементов), приливают 2—4 мл раствора цитрата натрия, очищенного дитизоном, и устанавливают реакцию pH 2,0 по универсальной индикаторной бумаге. Затем добавляют в пробирку 1 мл раствора дитизона в четыреххлористом углероде и сильно взбалтывают в течение полминуты. Медь, образуя дитизонат меди, экстрагируется в слой CCl_4 . Полученный окрашенный слой сравнивают со стандартной шкалой. Если в вытяжке много меди и слой раствора дитизона имеет более интенсивный красный цвет, чем в последней пробирке цветной шкалы, то приливают дополнительное количество дитизона с таким расчетом, чтобы общее количество этого реактива составило 2,5, 5,0 или 7,5 мл. После каждого добавления дитизона пробирку энергично встряхивают и сравнивают окраску со шкалой. Если и в этом случае окраска выходит за пределы шкалы, то анализ повторяют с меньшим количеством фильтрата.

Когда в исследуемом растворе мало меди и при добавлении 1 мл дитизона колориметрируемая жидкость имеет более интенсивную зеленую окраску, чем в первой пробирке шкалы, делают повторный анализ с большим количеством фильтрата.

Полноту экстракции дитизоната меди определяют повторным встряхиванием пробирки и сравнением окраски со шкалой. Эту операцию повторяют до прекращения изменения окраски дитизона.

Приготовление реактивов для определения меди дитизоном

1. Дитизон. Около 0,01 г дитизона растворяют в 50 мл CCl_4 и фильтруют. Фильтрат переносят в делительную воронку на 200 мл, приливают 50 мл NH_4OH (1 : 20) и взбалтывают; при этом водный слой становится желтым, что указывает на щелочную реакцию. Нижний слой четыреххлористого углерода сливают, а водный слой 2—3 раза промывают CCl_4 , приливая его по 5—10 мл, взбалтывают и сливают нижний слой после разделения. Затем приливают в делительную воронку 50 мл четыреххлористого углерода и около 25 мл HCl , пока окраска раствора не станет зеленой (слабоокислая реакция). При взбалтывании дитизон переходит в слой CCl_4 . Необходимую концентрацию дитизона в растворе CCl_4 получают путем приливания по каплям очищенного концентрированного раствора дитизона в четыреххлористом углероде, полученном при сливании его из

делительной воронки, до тех пор, пока интенсивность окраски этого раствора не будет соответствовать интенсивности окраски нулевого деления стандартной шкалы.

2. 1,0 н раствор HCl . 82 мл концентрированной соляной кислоты (уд. вес 1,19) разбавляют дистиллированной водой до 1 л.

3. Аммиак (1 : 20). Один объем 25%-ного аммиака смешивают с 20 объемами дистиллированной воды.

4. Раствор цитрата натрия или аммония. 25 г цитрата натрия или аммония растворяют в дистиллированной воде и затем доливают ее до 100 мл. Раствор, как и воду, очищают раствором дитизона в CCl_4 .

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИНКА ПО СТАНДАРТНОЙ ШКАЛЕ

Из фильтрата, полученного при озолении материала, берут в пробирку диаметром 15 мм с притертой пробкой объем, соответствующий 0,1 г вещества, разбавляют очищенной дистиллированной водой до 5 мл, приливают 2—4 мл комплексного буферного раствора и взбалтывают. Очень кислые растворы перед прибавлением буфера нейтрализуют очищенным раствором ацетата натрия до pH 2,0. Затем добавляют буферный раствор и устанавливают реакцию pH 5,0—5,5 по универсальной индикаторной бумаге, добавляют 1 мл раствора дитизона в CCl_4 и взбалтывают полминуты. Цинк, образуя дитизонат цинка, экстрагируется в слой CCl_4 , который и сравнивают со стандартной шкалой. Если в вытяжке много цинка и раствор дитизона краснее последней пробирки шкалы, то добавляют дополнительное количество раствора дитизона и продолжают экстракцию, как описано при определении меди по шкале.

Приготовление реактивов для определения цинка

1. Раствор дитизона готовят так же, как при определении меди.

2. Комплексный буферный раствор. 40 г ацетата натрия и 40 г тиосульфата натрия растворяют в дистиллированной воде, объем жидкости доводят до 200 мл и очищают раствором дитизона в CCl_4 .

3. Раствор ацетата натрия. 20 г ацетата натрия растворяют в воде и доводят объем до 100 мл. Затем раствор очищают раствором дитизона в CCl_4 .

Дистиллированную воду также очищают в делительной воронке раствором дитизона в CCl_4 путем взбалтывания. Нижний слой жидкости каждый раз сливают. Обработку дитизоном продолжают до тех пор, пока зеленая окраска не будет больше изменяться. Во время пользования очищенными реактивами к ним необходимо добавить немного раствора дитизона и периодически взбалтывать раствор.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАРГАНЦА ПО СТАНДАРТНОЙ ШКАЛЕ

Фильтрат в количестве, соответствующем навеске растительного материала в 1 г, наливают в широкогорлую колбу из термостойкого стекла на 50 мл и выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 0,5 мл концентрированной азотной кислоты и 7 мл дистиллированной воды при нагревании. Затем добавляют 0,5 мл концентрированной серной кислоты, 0,3—0,5 мл 85%-ного раствора H_3PO_4 и 1 мл 2%-ного раствора AgNO_3 .

К подготовленному раствору 2—3 раза добавляют небольшие количества сухого персульфата калия (или аммония), всего 0,6—0,9 г, нагревая после каждого добавления до кипения. Когда раствор приобретет неизменяющуюся розовую окраску, его переливают в пробирку диаметром 15 мм, доводят дистиллированной водой до 10 мл и интенсивность окраски сравнивают с окраской шкалы. Если в вытяжке много марганца и интенсивность окраски анализируемого раствора больше, чем в последней пробирке шкалы, то его разбавляют водой (в 2, 3 и больше раз) и снова сравнивают со шкалой. Для разбавления применяют дистиллированную воду, содержащую окислитель.

Приготовление реактивов. 1. Соли надсерной кислоты — персульфаты — $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ или $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (сухие).

2. Вода с окислителем. К 100 мл дистиллированной воды приливают 3 мл концентрированной серной кислоты, 1 мл 85%-ной ортофосфорной кислоты, 1 мл 2%-ного раствора AgNO_3 , добавляют 0,6 г персульфата аммония и кипятят до прекращения сильного выделения пузырьков.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОБАЛЬТА ПО СТАНДАРТНОЙ ШКАЛЕ

Фильтрат в количестве, соответствующем навеске растительного материала в 5—10 г, переносят в широкогорлую колбу из термостойкого стекла на 50—100 мл и выпаривают досуха. Остаток растворяют в 3—6 каплях концентрированной HNO_3 и 5 мл дистиллированной воды. Затем к горячему раствору по каплям добавляют 1 н раствор KMnO_4 до слабо-розовой окраски, около 0,3 г сухой соли лимоннокислого натрия, нагревают, вносят 0,3—0,5 г сухой соли ацетата натрия и доводят раствор до кипения. Реакцию раствора доводят до pH 5,5.

После проверки pH исследуемого раствора добавляют 0,5—1,0 мл или больше 0,1%-ного раствора нитрозо-*R*-соли и кипятят 5—10 секунд. Необходимое количество раствора нитрозо-*R*-соли зависит от содержания кобальта в исследуемом растворе и определяется степенью покраснения его во время добавления нитрозо-*R*-соли. Затем к охлажденному раствору приливают 3 мл смеси H_3PO_4 и HNO_3 и доводят дистиллированной водой до 10—20 мл и большего объема с таким расчетом, что-

бы 0,5 мл 0,1%-ной нитрозо-*R*-соли приходилось на 10 мл раствора. Полученный раствор сравнивают со шкалой.

Приготовление реактивов. 1. Нитрозо-*R*-соль. Растворяют 0,1 г нитрозо-*R*-соли и доводят дистиллированной водой до 100 мл.

2. Смесь H_3PO_4 и HNO_3 : 5 частей H_3PO_4 смешивают с одной частью концентрированной HNO_3 .

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛИБДЕНА ПО СТАНДАРТНОЙ ШКАЛЕ

Фильтрат в количестве, соответствующем навеске растительного материала в 2—3 г, но не превышающем 7 мл и не содержащем больше 1 мл концентрированной HCl , помещают в пробирку с притертой пробкой, в которой проделывают все аналитические операции.

Если объем анализируемого раствора больше 7 мл, то фильтрат переносят в колбу из термостойкого стекла и выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл концентрированной HCl и 5—6 мл дистиллированной воды и переносят для определения в пробирку.

На каждые 10 мл раствора в пробирке или делительной воронке приливают 1 мл 10%-ного раствора KCNS , взбалтывают, добавляют 1,0—1,5 мл раствора SnCl_2 и снова взбалтывают до полного исчезновения красной окраски, вызванной роданидом железа. Если в растворе очень мало железа и после разбавления KCNS окраска раствора светло-розовая, то необходимо перед прибавлением SnCl_2 внести 2—3 капли раствора FeCl_3 . После восстановления железа на каждые 100 мл раствора прибавляют 0,5—1,0 мл смеси метафосфорной кислоты с SnCl_2 и взбалтывают. Добавление метафосфорной кислоты устраняет пожелтение экстракта, которое иногда наблюдается. Затем приливают изоамиловый спирт, количество которого определяется, исходя из следующих соображений:

1) сначала приливают 1 мл изоамилового спирта и, если окраска экстракта интенсивнее последнего деления шкалы, добавляют дополнительное количество изоамилового спирта;

2) изоамиловый спирт частично растворяется в водном растворе, поэтому сверх вышеупомянутого количества дополнительно добавляют на каждые 10 мл раствора 0,2 мл изоамилового спирта.

Приготовление реактивов. 1. KCNS , 10%-ный водный раствор.

2. Раствор SnCl_2 . 10 г SnCl_2 растворяют в 30 мл концентрированной HCl и доводят дистиллированной водой до 100 мл.

3. Раствор FeCl_3 . 5 г FeCl_3 растворяют в дистиллированной воде, добавляют 5 мл концентрированной HCl и доводят водой до 100 мл.

4. Изоамиловый спирт необходимо хранить в темной хорошо закрытой посуде.

5. Смесь метафосфорной кислоты с SnCl_2 . 10 г HPO_3 растворяют в воде, приливают 5 мл раствора SnCl_2 и доводят водой до 100 мл.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БОРА ПО СТАНДАРТНОЙ ШКАЛЕ

Золу, соответствующую 0,25—1,0 г навески растительного материала, растворяют в 1 мл раствора гипофосфита (соли фосфорноватистой кислоты H_3PO_2) и 9 мл концентрированной H_2SO_4 и тщательно перемешивают. Берут в аналитическую пробирку (диаметром 15 мм) с притертой пробкой 0,5, 0,2 или 0,1 мл этого раствора, добавляют соответственно 0,5, 0,8 или 0,9 мл раствора гипофосфита с тем, чтобы объем раствора в пробирке составил 1 мл. Затем концентрированной серной кислотой объем доводят до 10 мл. К подготовленному сериокислому раствору в пробирке добавляют раствор хиализарина из расчета 0,5 мл на каждые 5 мл раствора, смешивают и через 30 минут сравнивают со стандартной шкалой.

В случае получения окраски, выходящей за пределы шкалы, анализ повторяют с меньшим или большим количеством исходного раствора.

Приготовление хиализарина: 5 мл хиализарина растворяют в 100 мл химически чистой концентрированной серной кислоты.

Вычисление результатов анализа (пример)

2 г растительного масла после озоления растворены в 10 мл подкисленной воды. Из этого раствора для определения марганца было взято 5 мл. После окисления марганца общий объем доведен до 20 мл, интенсивность окраски совпадает с четвертым делением шкалы. Следовательно, взятому количеству раствора соответствует навеска

$$\frac{2 \times 5}{10} = 1,0 \text{ г.}$$

Четвертое деление шкалы при объеме раствора в 10 мл соответствует 0,03 мг марганца, а при объеме в 20 мл — 0,06 мг.

Количество марганца (мг/кг) равно

$$\frac{0,06 \cdot 1000}{1} = 60.$$

Подобным образом вычисляются и другие микроэлементы.

Приведенные нами шкалы из цветных растворов минеральных солей авторы метода рекомендуют проверять по шкалам стандартных растворов из самих микроэлементов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В КОРМАХ, ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ

В настоящее время известно, что малые количества и ничтожные концентрации химических элементов могут играть большую роль в жизненных процессах. Понимание химических и биохимических механизмов обмена веществ невозможно без учета микроэлементов как составных частей многих биологически активных соединений — витаминов, ферментов, гормонов и других сложных веществ, играющих большую роль в организмах.

При изучении микроэлементов необходимо учитывать их количественное содержание в объектах биологических исследований. Но содержание микроэлементов в этих объектах так мало, что обычные методы количественного химического анализа оказываются непригодными для их определения. Для этой цели необходимы специальные, главным образом, физико-химические, инструментальные методы анализа, позволяющие определять ничтожные следы элементов с достаточной точностью.

Наиболее широкое распространение получили фотоколориметрические, спектральные, спектрофотометрические и полярографические методы определения микроэлементов. Мы приводим здесь описание наиболее простых, доступных колориметрических методик определения микроэлементов, разработанных в Институте биологии Академии наук Латвийской ССР и полярографические, высокопроизводительные методы определения некоторых микроэлементов, являющиеся результатом многолетних исследований, проводимых в СибНИВИ.

Некоторые требования при определении микроэлементов. Обычно применяемые в макрохимическом анализе реактивы, даже квалификации «х. ч.» не соответствуют требованиям, предъявляемым к ним при определении микроконцентраций, и подлежат дополнительной очистке от примесей определяемых микроэлементов и других веществ, мешающих проведению анализов. Необходимо соблюдать меры предосторожности при отборе, высушивании и измельчении проб биологических материалов. Не следует размалывать пробы мельницами с металлическими жерновами. Если же в силу ряда обстоятельств приходится ими пользоваться, ставят контрольные опыты, результаты которых должны учитываться при оформлении результатов анализов путем введения в последние соответствующих поправок.

При использовании стеклянной посуды приходится учитывать, что она содержит примеси некоторых микроэлементов. Так, стекло «пирекс» содержит As, Zn, Pb, «ненское» — Zn, Mn, Cr, Fe. Лучшим для определения микроэлементов является кварцевое стекло и затем стекло завода «Дружная горка». В настоящее время широкое применение находит полиэтиленовая посуда.

Фарфор содержит примеси Pb, Co, и Zn. Длительное использование тиглей не рекомендуется, так как это приводит к разрушению глазури и, в связи с этим, к увеличению поступления примесей в анализируемые пробы.

Стекланную посуду и приборы, используемые в определении микроэлементов, необходимо промывать 10%-ной соляной кислотой, дистиллированной водой и затем споласкивать бидистиллированной водой. Такая обработка обычно бывает эффективной, так как удаляет не только загрязнения, но и адсорбированные поверхностью стекла ионы микроэлементов, заменяя их ионами водорода.

Обычная дистиллированная вода часто содержит примеси тяжелых металлов, которые могут заметно повлиять на результаты анализов. Поэтому в определении микроэлементов необходимо пользоваться бидистиллированной водой.

Для очистки кристаллических солей (марки «ч. д. а» и «х. ч.») часто бывает достаточно однократной их перекристаллизации из бидистиллированной воды. При этом несколько уменьшается содержание последних примесей микроэлементов, которые находятся в различных количествах, в том числе и за пределами границ чувствительности метода анализа, или позволяют поставить контроль для введения поправок в данные определения.

Однако в некоторых случаях приходится производить очистку солей от отдельных тяжелых металлов методами экстракции, подобными тем, которые используются для определения этих элементов. При экстракции концентрированные растворы солей смешивают с растворами дитизона в хлороформе или четыреххлористом углероде. При этом образуются дитизонаты меди, цинка, кобальта и других металлов и удаляются. Диэтилдитиокарбамат натрия и амиловый спирт используют для удаления меди из некоторых реактивов.

Концентрированные кислоты очищают от примесей микроэлементов методом перегонки. Перегонка при высокой температуре связана с применением перегонных аппаратов из стекла «пирекс» с соединением отдельных частей на шлифах, а в случае серной кислоты необходима реторта из кварцевого стекла, что не всегда является доступным, особенно для рядовых лабораторий. Очень удобный и простой в выполнении — метод изотермической перегонки соляной, азотной кислот и аммиака, который заключается в следующем. На дно эксикатора наливают 1 литр концентрированной соляной кислоты (уд. вес 1,19) марки «х. ч.», а на фарфоровый вкладыш ставят стакан, в который наливают 250 мл бидистиллированной воды. Эксикатор закрывают плотно крышкой и оставляют стоять на 2—3 дня. За это время произойдет перегонка кислоты и в стакане будет находиться примерно 20%-ная HCl, полностью очищенная от примесей. Таким же способом можно очистить HNO₃ и концентрированный (25%-ный) аммиак. Точную концентрацию перегнанных

кислоты и аммиака определяют обычными методами объемного анализа.

Подготовка проб к анализу. В определении микроэлементов правильный отбор проб для анализа имеет особенно большое значение. Как правило, навеска материала для аналитического определения берется небольшая, результаты же анализа должны дать содержание микроэлементов, которое свойственно данному объекту в среднем. Поэтому, если средняя проба отобрана небрежно, то данными ее анализа не представляется возможным характеризовать объект в целом.

Правила отбора первоначальной пробы и ее вес приведены в соответствующих разделах книги, относящихся к анализу кормов, органов и тканей животных. После высушивания и измельчения материала из него получают среднюю, а из средней — аналитическую пробу, из которой уже берут навеску для анализа.

Для определения микроэлементов в биологических материалах прежде всего необходимо произвести их озоление, т. е. разрушение органических веществ. Это может быть выполнено мокрым и сухим способами. Мокрое озоление проводится путем нагревания исследуемой пробы с концентрированной серной кислотой (с добавлением небольших количеств 30%-ной перекиси водорода). Этот способ является неприемлемым при определении микроэлементов, так как необходимо применять большие количества серной кислоты, очистка которой представляет значительные трудности. Кроме того, образующийся при этом осадок сульфата кальция (гипса) увлекает с собой значительные количества микроэлементов.

Сухое озоление гораздо проще и связано с меньшими затратами времени. Однако при этом необходимо учитывать температурный фактор. Если температура озоления будет выше 500° , то возможны потери микроэлементов. Температурные ограничения сильно удлиняют время, затрачиваемое на озоление. Необходимо подчеркнуть, что озоление проб органов и тканей животных связано с большими затруднениями. Большое содержание фосфора и щелочных металлов в золе приводит к образованию (в процессе озоления) легкоплавких фосфатов натрия и калия, которые обволакивают обугленные частицы пробы, препятствуя их озолению. Для озоления требуется 5—6 дней, в результате чего зола приплавляется к стенкам тигля, так что пропадает тигель и озоляемая проба. Это обстоятельство служит причиной большого разброса результатов анализа и сильно ограничивает проведение массовых определений.

Г. Я. Ринькис разработал новый, весьма эффективный метод озоления проб биологических материалов, в котором преодолены отмеченные выше ограничения. Этот метод заключается в предварительном обугливании озоляемой навески и последующем ее окислении парами азотной кислоты при нагревании

до 400°. Озоление навески в 2—5 г продолжается всего 1—5 минут. Получается светло-серая зола без частиц угля, при этом совершенно исключается приплавление золы к стенкам тигля. Кроме отмеченного, преимуществом метода является следующее:

1) сведены к минимуму потери определяемых элементов, связанные с длительным нагреванием;

2) устраняется возможность загрязнения, поскольку на озоляемый материал поступают только пары азотной кислоты.

Процесс озоления состоит в следующем. Навеску сухого (размолотого) материала помещают в фарфоровую чашку или тигель емкостью 50 мл и нагревают на электроплитке или в муфельной печи до обугливания материала. При появлении дыма рекомендуется пробу поджечь, так как по данным автора обугливание в пламени значительно ускоряет озоление и не сопровождается потерей минеральной части. Это особенно важно при озолении веществ с большим содержанием жира.

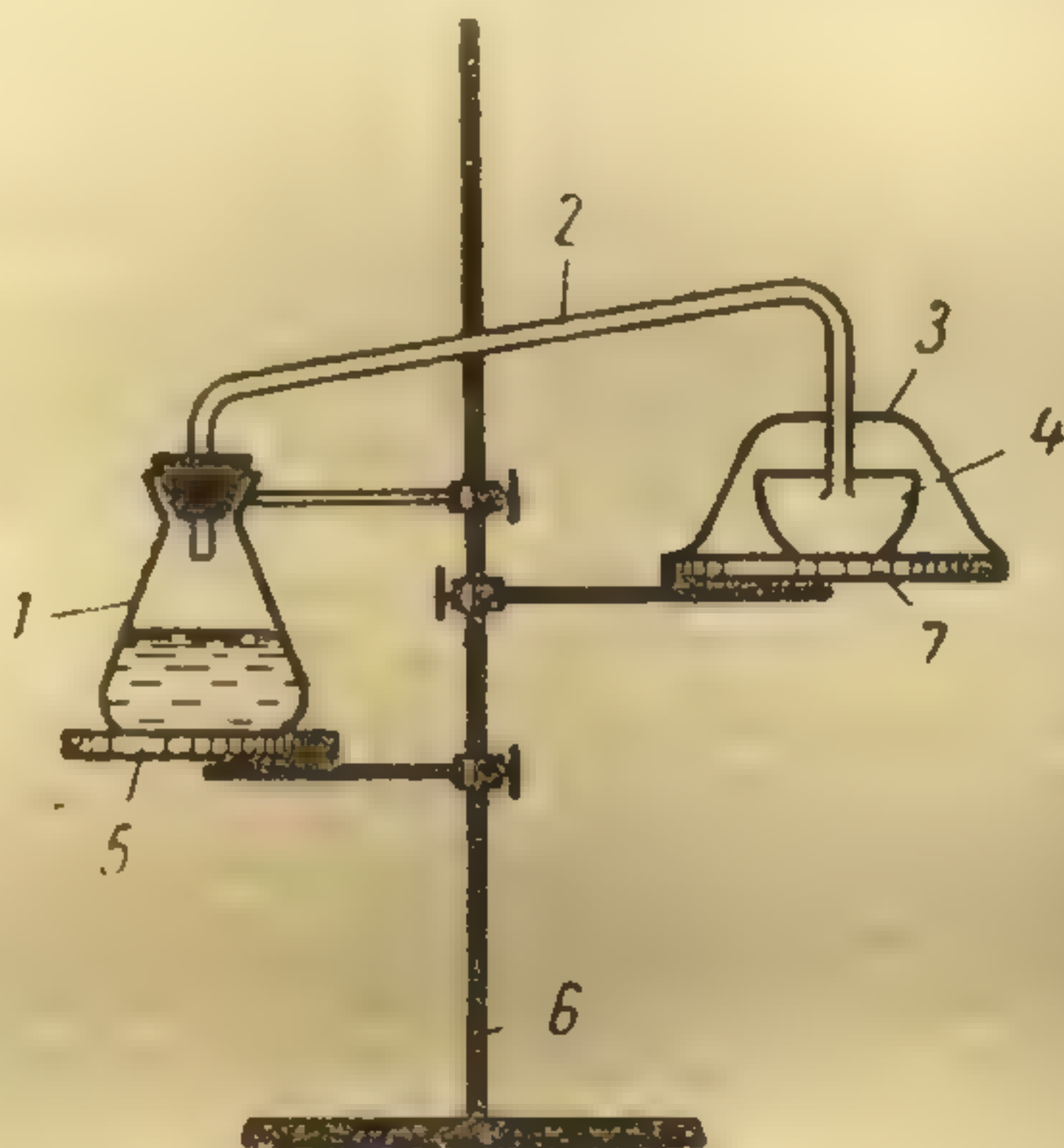


Рис. 56. Устройство для озоления по методу Ринькиса;

1 — колба со шлифом; 2 — трубка для отвода паров HNO_3 ; 3 — чашка для покрытия; 4 — чашка с анализируемой навеской; 5, 7 — электрические нагреватели; 6 — штатив

Золу рыхлых материалов предварительно немного уплотняют стеклянной палочкой. Чашку с обуглившейся навеской накрывают другой чашкой большего размера, имеющей в середине небольшое отверстие, через которое к обугленному материалу поступают пары азотной кислоты. Они образуются в колбе (рис. 56), где нагревают смесь концентрированной и азотной кислот, взятых в отношении 1 : 2. Вместо азотной кислоты можно взять азотнокислый калий или натрий.

Количество смеси не должно превышать половины объема колбы. Для равномерного выделения паров азотной кислоты в колбу опускают несколько тонких стеклянных капилляров диаметром 0,5—0,6 мм и длиной 20—30 мм, у которых один конец оплавлен в маленький шарик (диаметр 1—2 мм). Капилляры следует периодически промывать в горячей воде и просушивать.

В отверстие чашки опускают стеклянную трубку от перегонной колбы, включают электроплитку под чашкой и колбой (со смесью H_2SO_4 и HNO_3) и начинают пропускать пары к озоляемой пробе. Через 20—30 секунд пропускание паров азотной кислоты прекращают и осматривают озоляемый материал. Как только зола становится светлой, озоление прекращают. На озоление обычно уходит несколько минут.

Более удобным является изготовление перегонной трубки с расширением на конце, имеющем форму воронки, диаметр которой позволяет опускать ее до половины тигля. При такой конструкции существенно уменьшаются количества паров азотной кислоты на окисление. Смена тиглей не представляет затруднений: для этого необходимо лишь удалить подставку, на которой помещается электроплитка, подставить другой тигель и затем подставку под электроплитку.

Обработка и растворение золы, полученной после сжигания пробы, производится различно, в зависимости от того, какие методы будут применяться для определения микроэлементов. фотометрические или полярографические.

При колориметрическом определении золу охлаждают, смачивают концентрированной соляной кислотой и выпаривают досуха. Эту операцию повторяют два раза. Затем золу еще раз смачивают концентрированной соляной кислотой, приливают горячей бидистиллированной воды, подкисленной HCl (1 : 100) и фильтруют через беззольный фильтр, который перед фильтрованием промывают 2—3 раза 1 н. HCl , а затем 3—4 раза бидистиллированной водой. Остаток на фильтре промывают 2—3 раза небольшим количеством горячей воды, подкисленной HCl , а затем фильтрат доливают до метки бидистиллированной водой в мерной колбе на 100 мл. В случае колориметрического определения микроэлементов для озоления берут навеску сухого мелко-размолотого материала в 10 г.

Размеры навесок, приемы обработки золы и объемы родных растворов при использовании полярографического метода приведены на стр. 224—225.

ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕДИ, ЦИНКА И МАРГАНЦА В КОРМАХ, ОРГАНАХ И ТКАНЯХ, ЖИВОТНЫХ (по А. Т. Усовичу)

Подготовка проб к анализу. Корма. 2 г мелко-размолотого воздушно-сухого корма помещают в фарфоровый тигель и озоляют в муфельной печи при температуре 500—600°

(темно-красное каление) в течение 1—2 часов. Если за это время озоление не закончилось, тигель удаляют из печи, дают ему немного остыть, прибавляют 1 мл 20%-ной HCl и 3—4 капли 30%-ной перекиси водорода (пергидроля) и снова озоляют в печи до получения светло-серой золы. Хотя озоление кормов можно производить описанным способом, но при массовых анализах лучше прибегнуть к методу Г. Я. Ринькиса (стр. 222).

К золе прибавляют 2 мл 20%-ной HCl , тигель ставят на песчаную баню и выпаривают. Когда останется меньше половины кислоты, прибавляют 3—4 капли 30%-ной перекиси водорода и выпаривают до тех пор, пока останется лишь несколько капель, после чего тигель снимают с бани. Остающиеся капли HCl под воздействием тепла, накопленного тиглем, испаряются без нагревания. Нарушение этих приемов может привести к образованию окислов и основных солей микроэлементов, которые не растворяются в разбавленной HCl .

Если озоление производилось по методу Г. Я. Ринькиса, то необходимо операцию обработки золы 2 мл 20%-ной HCl повторять не менее трех раз для перевода нитратов в хлориды, поскольку ионы NO_3^- мешают полярографированию цинка и марганца.

К полученному сухому остатку солей пипеткой прибавляют 10 мл 0,2 н HCl и растворяют остаток при тщательном перемешивании стеклянной палочкой. Раствор переливают в пробирку и закрывают полиэтиленовой или резиновой пробкой, завернутой в полиэтиленовую пленку.

Органы и ткани. 25 г сырого мелко нарезанного органа (или ткани) высушивают до постоянного веса в сушильном шкафу при $100-105^\circ$. Высушенный материал размалывают, берут навеску в 2 г, помещают в большой тигель (на 50 мл), нагревают на электроплитке (или в муфельной печи) до полного обугливания и заканчивают озоление по методу Ринькиса (стр. 222). Дальше поступают так же, как при озолении проб кормов.

Сыворотка крови. 2 мл сыворотки крови озоляют так же, как и пробы органов и тканей, но остаток растворяют в 5 мл 0,2 н HCl .

Мод анализ. В 24 центрифужные пробирки помещают по 2 мл подготовленного к анализу солянокислого раствора золы биологических материалов и по 2 мл буферного аммиачного фона¹, хорошо перемешивают и закрывают полиэтиленовыми пробками. Растворы оставляют стоять на 2 часа для полного осаждения железа (III), алюминия, кальция и магния в виде гидратов и установления равновесного состояния. После этого производят центрифугирование растворов, причем осадок из растворов не удаляют.

¹ Стр. 232.

В катодные сосуды вносят по 2,5 мл центрифугата, прибавляют 1 каплю насыщенного раствора сульфита натрия для связывания молекулярного кислорода, тщательно перемешивают, затем добавляют 1 каплю 0,5%-ного раствора желатинны для устранения максимума полярографических кривых и оставляют стоять на 20 минут с тем, чтобы обеспечить прохождение реакции между сульфитом натрия и молекулярным кислородом.

Производят настройку полярографа и подготовку его к работе. В фотокамеру (при красном свете) помещают лист фотобумаги («Унибром» № 4 или № 5 размером 10×24 см) и наносят координатную сетку. Для этого подвижный контакт реохорда устанавливают на нулевое деление, а ручку автоматического выключателя электромотора — на 3,8 в. Световой указатель гальванометра ставят на нулевое деление визуальной шкалы, включают отметку абсцисс и переводят на нуль лимб фотокамеры. Открывают световую щель фотокамеры и нажатием кнопки пускового устройства включают электродвигатель реохорда. Окончание записи координатной сетки происходит автоматически, на заданном делении реохорда (3,8 в). Закрывают световую щель, лимб фотокамеры переводят на нуль и выключают отметку абсцисс.

После этого приступают к полярографированию меди (техника полярографирования применительно к полярографу ЛП-53а подробно описана на стр. 136—139).

Посредством реостата настройки напряжение, даваемое на реохорд от батарей аккумуляторов, устанавливают по вольтметру на 4 в, а подвижный контакт — на $-0,20$ в. После этого катодный сосуд с исследуемым раствором соединяют агаровым сифоном (с KCl) с анодным сосудом. Поднимают и закрепляют на определенной высоте резервуар со ртутью и капельный электрод погружают в раствор на 4—5 мм. При этом начинается падение капель ртути из капилляра.

Ручку шунта гальванометра устанавливают на чувствительность $S = 1/5$, компенсатор емкостных токов — на деление 3, ручку автоматического выключателя электродвигателя на $-1,80$ в, а переключатель интервалов поляризации — на 0—4 в (по красной шкале). Клеммы электролизера подключают к соответствующим гнездам прибора: капельный электрод к минусу, анодный сосуд к плюсу. Вращением механического корректора световой указатель гальванометра переводят на нулевое деление шкалы, лимб фотокамеры — на нуль и открывают световую щель. Нажатием пусковой кнопки включают электродвигатель и записывают вторую волну меди ($E_{1/2} = -0,54$ в) в интервале $-0,20$ — $-0,80$ в.

Как только реохорд дойдет до значения $-0,80$ в, фотокамеру закрывают и приступают к записи волн цинка и марганца. Для этого чувствительность переключают на $1/10$ в случае анализа сыворотки крови и на $1/20$ — при анализе проб кормов, ор-

ганов и тканей. Компенсатор емкостных токов ставят на деление 1. Как только подвижный контакт реохорда будет подходить к значению 1 вольта, лимб фотокамеры переводят на деление 1, открывают световую щель и записывают волны цинка и марганца в интервале — 1,00—1,80 в.

Потенциалы полуволи цинка и марганца на буферном аммиачном фоне соответственно равны — 1,38—1,69 в. Поскольку перед началом полярографирования ручка автоматического выключения электродвигателя была установлена на — 1,80 в, то как только подвижный контакт реохорда достигнет этого деления, электродвигатель автоматически выключается. После того, как остановится реохорд, закрывают фотокамеру и отключают плюсовой зажим электролизера. Подвижный контакт реохорда снова устанавливают на напряжение — 0,20 в.

Удаляют катодный сосуд с проанализированным раствором, промывают капельный электрод и конец агарового сифона бидистиллированной водой и ставят следующий катодный сосуд. Шунт переводят на чувствительность $\frac{1}{5}$, компенсатор емкостных токов — на деление 3, световой указатель гальванометра снова устанавливают на нуль, а лимб фотокамеры — на деление 2. Открывают световую щель, включают электродвигатель и начинают запись волны меди во второй пробе, а затем повторяют те операции, которые были описаны выше. Начало записи каждый раз сдвигают на одно деление лимба фотокамеры, т. е. во избежание наложения кривых их сдвигают по абсциссе полярограммы.

На одном листе фотобумаги размером 10×24 см помещают 16 полярографических кривых, которые включают в себя 24 волны, по 8 волн для каждого элемента. Таким образом, на одной полярограмме записывают результаты 24 анализов. После проявления и высушивания фотопольрограмм нумеруют полученные кривые в соответствии с записями в рабочем журнале и измеряют высоты волн по методу Хопа. Затем по высотам волн на калибровочных кривых находят содержание меди, цинка и марганца в исследуемых пробах кормов, органов и тканей животных.

Построение калибровочных кривых

А. Для определения меди, цинка и марганца в кормах. Для приготовления серии стандартных растворов применяют смешанный стандартный раствор № 1, который содержит в 1 литре миллиграммов: меди — 10, цинка — 40 и марганца — 80.

В 5 пронумерованных мерных колб на 100 мл из бюретки вносят определенные количества стандартного раствора № 1, указанные в таблице, и доливают до метки 0,2 н HCl

Номера колб на 100 мл	1	2	3	4	5
Количество миллилитров стандартного раствора № 1	10	20	30	40	50
Концентрация, мг/л:					
меди	1	2	3	4	5
цинка	4	8	12	16	20
марганца	8	16	24	32	40
Содержание микроэлементов в кормах, мг/кг:					
меди	5	10	15	20	25
цинка	20	40	60	80	100
марганца	40	80	120	160	200

В 5 катодных сосудов микропипеткой берут по 1 мл раствора из соответствующей колбы, прибавляют 1 мл буферного аммиачного фона, 1 каплю насыщенного раствора сульфита натрия и 1 каплю 0,5%-ного раствора желатины. Сосуды закрывают полиэтиленовыми пробками и оставляют стоять на 20 минут. При полярографировании меди используют чувствительность $\frac{1}{5}$, а компенсатор емкостных токов устанавливают на деление 3. Для цинка и марганца устанавливают чувствительность $\frac{1}{10}$ с установкой компенсатора на 1.

По данным полярографических измерений строят калибровочный график, откладывая на оси ординат высоты волн в мм (или в микроамперах), а на оси абсцисс — содержание микроэлементов в мг в 1 кг сухого корма.

Б. Для определения меди, цинка и марганца в органах и тканях животных.

Для получения калибровочных кривых пользуются смешанным стандартным раствором № 2 с содержанием в 1 литре 40 мг меди, 120 мг цинка и 40 мг марганца.

Номера колб на 100 мл	1	2	3	4	5
Количество миллилитров стандартного раствора № 2	5	15	25	35	45
Концентрация, мг/л:					
меди	2	6	10	14	18
цинка	6	18	30	42	54
марганца	2	6	10	14	18
Содержание микроэлементов, мг/кг в пересчете на сухую пробу:					
меди	10	30	50	70	90
цинка	30	90	150	210	270
марганца	10	30	50	70	90

В 5 мерных колб вносят (из бюретки) указанные в таблице объемы стандартных растворов № 2 и доливают до метки 0,2 н. HCl.

В полученных растворах полярографирование меди производят при чувствительности $1/5—1/10$, а цинка и марганца — при чувствительности $1/20$. Компенсатор емкостных токов устанавливают на делении 3 для меди и на делении 1 — для цинка и марганца.

В. Для определения меди, цинка и марганца в сыворотке крови животных.

При построении калибровочной кривой используется смешанный стандартный раствор № 3, содержащий 4 мг меди, 12 мг цинка и 4 мг марганца в 1 литре.

Указанные в таблице объемы стандартного раствора № 3 вносят в мерные колбы на 100 мл и доливают до метки 0,2 н. HCl.

Номера колб на 100 мл	1	2	3	4	5
Количество миллилитров стандартного раствора № 3	5	15	25	35	45
Концентрация, мг/л:					
меди	0,2	0,6	1,0	1,4	1,8
цинка	0,6	0,8	3,0	4,2	5,4
марганца	0,2	0,6	1,0	1,4	1,8
Содержание микроэлементов в сыворотке крови, мг%:					
меди	0,05	0,15	0,25	0,35	0,45
цинка	0,15	0,45	0,75	1,05	1,35
марганца	0,05	0,15	0,25	0,35	0,45

Медь полярографируют на чувствительности $1/5$, для цинка и марганца используют чувствительность $1/10$. Установка компенсатора: для меди — деление 3, для цинка и марганца — деление 1.

Полярографирование проб исследуемых материалов должно производиться с использованием тех же самых параметров, которые применялись при построении калибровочных кривых. Эти параметры (чувствительность, компенсация емкостных токов и др.) даны применительно к работе на автоматическом полярографе ЛП-55А с фотозаписью полярограмм. При работе на других моделях полярографов соответствующие параметры должны быть найдены экспериментальным путем.

Реактивы. 1. Смешанный стандартный раствор № 1. В мерной колбе на 1 литр растворяют в 0,2 н HCl следующие навески свежеперекристаллизованных реактивов марки «х. ч.»: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,0393 г, $\text{ZnO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,1760 г; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ —

0,2884 г. Раствор доливают до метки 0,2 н HCl. Содержится в 1 л миллиграммов: меди — 10, цинка — 40, марганца — 80.

2. Стандартный раствор № 2: 0,1574 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,5278 г $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и 0,1442 г $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ растворяют в мерной колбе на 1 литр в 0,2 н HCl. Реактивы марки «х. ч.» должны быть перекристаллизованы из бидистиллированной воды. Содержится в 1 л миллиграммов: меди — 40, цинка — 120, марганца — 4.

3. Стандартный раствор № 3. Готовится разбавлением в 10 раз стандартного раствора № 2. В 1 литре содержится миллиграммов: меди — 4, цинка — 12, марганца — 4.

4. Соляная кислота HCl, 20%-ная. Получают из концентрированной (уд. вес 1,19) в результате изотермической перегонки.

5. Аммиак 20%-ный, полученный из 25%-ного аммиака после перегонки.

6. Ртуть металлическая, перегнанная, высокой степени очистки, марки Р-1.

7. Бидистиллированная вода.

8. Желатина очищенная (для специальных работ), 0,5%-ный раствор на бидистиллированной воде: к 0,5 г желатины прибавляют 100 мл бидистиллированной воды, оставляют на ночь для набухания, а затем нагревают на водяной бане до полного растворения.

9. Сульфит натрия Na_2SO_3 , насыщенный раствор: к 27 г реактива марки «х. ч.» прибавляют 73 мл бидистиллированной воды и взбалтывают до получения насыщенного раствора.

10. Перекись водорода H_2O_2 («х. ч.»), 30%-ный раствор. Желатина, сульфит натрия и перекись водорода квалификации «х. ч.» можно применять без дополнительной очистки, поскольку их растворы применяются в очень малых количествах (1—3 капли). Примеси меди, цинка и марганца, вносимые с этими объемами, являются незначительными и обычно элиминируются введением таких же количеств перечисленных растворов в стандартные растворы при построении калибровочных кривых. Следует заметить, что очистка сульфита натрия и перекиси водорода не представляется возможной для рядовых лабораторий.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОБАЛЬТА В КОРМАХ, ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ (по А. Т. Усовичу)

Принцип метода. Кобальт осаждают из солянокислого раствора золы биологического материала α -нитрозо- β -нафтолом. При этом вместе с кобальтом осаждается железо и частично марганец и некоторые другие элементы, а цинк и никель (которые могли бы мешать определению) остаются в растворе. Полученный осадок озоляют и в солянокислом растворе минерального остатка полярографируют кобальт на буферном аммиачном фоне в пределах — 0,8—1,5 в. Кобальт восстанавливается

при этом на ртутном капельном электроде в виде гексаммин-кобальт-иона $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, образуя волну с потенциалом полуволны $E_{1/2} = -1,40$ в. Расчеты концентраций кобальта в исследуемой пробе проводят по методу калибровочной кривой.

Ход анализа. 1. В муфельной печи озоляют 10 г пробы сухого корма, золу обрабатывают 10 мл 20%-ной соляной кислоты, выпаривают досуха и остаток растворяют в 25 мл 0,2 н HCl .

2. К 20 мл полученного раствора прибавляют 1,5 мл 20%-ной HCl , 8,5 мл 82%-ной уксусной кислоты и 20 мл спиртово-уксусного раствора α -нитрозо- β -нафтола.

3. После осаждения кобальта раствор фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента» (промытый горячей 0,2 н HCl) и промывают осадок на фильтре 4—5 раз дистиллированной водой (подкисленной соляной кислотой).

4. Фильтр с осадком озоляют в муфельной печи, золу обрабатывают 1,5 мл 20%-ной HCl (с прибавлением 2 капель 30%-ной перекиси водорода), выпаривают досуха и остаток растворяют в 5 мл 0,2 н HCl .

5. К 2 мл раствора прибавляют 2 мл буферного аммиачного фона, центрифугируют осадок $\text{Fe}(\text{OH})_3$, берут в электролизер 2 мл центрифугата, добавляют 1 каплю насыщенного раствора сульфита натрия и 1 каплю 0,5%-ного раствора желатины.

6. Раствор полярографируют в режиме катодной поляризации капельного ртутного электрода при чувствительности гальванометра в $1/5$ — $1/7$ с компенсацией конденсаторных токов, в интервале потенциалов — 0,8—1,5 в.

7. Измеряют высоту волны h на полярограмме и затем с помощью калибровочной кривой рассчитывают содержание кобальта в г/кг по формуле:

$$C_{\text{Co}} = 0,625 C_x$$

где C_x — количество мг кобальта в 1 л, найденное по калибровочной кривой; 0,625 — числовой коэффициент.

Построение калибровочной кривой. В 5 мерных колб на 100 мл вносят 10, 20, 30, 40 и 50 мл стандартного раствора № 2 и доливают до метки 0,2 н HCl . Содержание кобальта в стандартных растворах составляет соответственно 1, 2, 3, 4 и 5 мг/л. Полученные растворы полярографируют на буферном аммиачном фоне в тех же условиях, в которых производится полярографирование исследуемых растворов. Измерив высоты волн, строят калибровочную кривую (на миллиметровой бумаге), откладывая на оси ординат высоты волн в миллиметрах, а на оси абсцисс — величины C_x (мг $C_{\text{Co}}/\text{л}$).

Реактивы. 1. Стандартный раствор № 1 (исходный): 0,4040 г хлористого кобальта $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (марки «х. ч.») растворяют в мерной колбе на 1 литр и доливают до метки 0,2 н HCl .

2. Стандартный раствор № 2 (получают разбавлением в 10 раз (0,2 н HCl) стандартного раствора № 1. 1 мл раствора содержит 0,01 мг кобальта.

3. Соляная кислота HCl , 20%-ная. Получают путем перегонки концентрированной HCl (уд. вес 1,19) изопиестическим (холодным) методом. Точную концентрацию перегнанной кислоты устанавливают обычным объемным методом анализа.

4. Соляная кислота HCl , 0,2 н. Приготавливают из перегнанной HCl .

5. Уксусная кислота CH_3COOH , 82%-ная. Приготавливают разбавлением ледяной уксусной кислоты марки «х. ч.».

6. Аммиак, 25%-ный («х. ч.»). Очищают от примесей методом холодной перегонки. Точную концентрацию перегнанного аммиака устанавливают объемным методом.

7. Аммоний хлористый NH_4Cl марки «х. ч.». Очищают от примесей перекристаллизацией.

8. Буферный аммиачный фон — 2 М раствор NH_4Cl в 2М NH_4OH : 107 г хлорида аммония NH_4Cl вносят в мерную колбу на 1 литр, прибавляют 400—500 мл бидистиллированной воды и растворяют навеску. Затем прибавляют 185 мл 20%-ного аммиака и доливают раствор до метки бидистиллированной водой.

9. α -нитрозо- β -нафтол $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$, 3%-ный раствор в смеси этилового спирта и 50%-ного водного раствора уксусной кислоты.

10. Натрий сернистокислый (сульфит натрия) Na_2SO_3 , насыщенный раствор.

11. Перекись водорода H_2O_2 30%-ная («х. ч.»).

12. Желатина очищенная, 0,5%-ный раствор.

ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА В КОРМАХ, ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ (по А. Т. Усовичу)

Принцип метода. К определенному объему солянокислого раствора золы прибавляют фон-комплексобразователь (оксалат калия, цитрат аммония), который образует комплексные соединения с двух- и трехвалентным железом, затем, после удаления кислорода, производят анодно-катодное полярографирование железа. Получается сложная окислительно-восстановительная волна, которая нулевой линией тока делится на две части: нижняя часть характеризует содержание двухвалентного, а верхняя — трехвалентного железа в растворе. Общая высота волны зависит от суммарной концентрации железа.

По высоте волны с помощью калибровочной кривой рассчитывают содержание железа в исследуемой пробе биологического материала.

Ход анализа. 1. В фотокамеру полярографа помещают фотобумагу и затем, включив полярограф, наносят координатную сетку и нулевую линию тока при отключенных электролизере и аккумуляторе (техника подготовки прибора к работе и полярографирования подробно описана на стр. 136—139).

2. Микропипеткой берут 1 мл солянокислого раствора золы (см. стр. 225), помещают в катодную пробирку электролитический сосуд и прибавляют 1 мл фона-комплексобразователя (в случае проб органов и тканей животных применяют 0,5 М раствор щавелевокислого калия, а при анализе кормов — 0,5 М раствор лимоннокислого аммония) и затем одну каплю 0,5%-ного раствора желатины для устранения максимума на полярографической кривой.

3. Пробирку закрывают резиновой пробкой с вставленными в нее двумя стеклянными трубочками для входа и выхода инертного газа.

4. Через раствор в течение 10 минут пропускают инертный газ — азот из баллона для удаления из растворов молекулярного кислорода. Пропускание азота производят одновременно через 6 катодных сосудов, соединенных между собой последовательно резиновыми трубками, благодаря чему на удаление кислорода из одной пробы раствора расходуется примерно полторы минуты. По окончании пропускания резиновую трубку замыкают на оба конца стеклянных трубочек с тем, чтобы изолировать растворы от контакта с воздухом.

5. Растворы полярографируют в режиме анодно-катодной поляризации ртутного капельного электрода при чувствительности $1/20$ — $1/50$ без компенсации емкостных токов. Потенциал редокволны железа на фоне 0,5 М оксалата калия равен — 0,36 в, а на фоне 0,5 М цитрата аммония — 0,49 в.

Измерив общую высоту волны, на калибровочной кривой находят отвечающую ей величину C_x (мг Fe/л) и затем рассчитывают содержание железа в пробе по формуле:

$$C_{Fe} = \frac{C_x \cdot V}{m},$$

C_{Fe} — содержание железа в пробе, мг/кг;

где C_x — концентрация железа в полярографируемом растворе в мг/л, найденная по калибровочной кривой (по высоте волны h_x);

m — навеска сухой пробы, г.

V — объем раствора золы, мл.

Поскольку для определения железа (меди, цинка и марганца) навеска составляет 2 г, а объем раствора золы — 10 мл, формулу можно упростить и получить очень удобную для расчетов рабочую формулу:

$$C_{Fe} = \frac{C_x - 10}{2} = 5 C_x \text{ мг/кг.}$$

Построение калибровочной кривой. В качестве стандартного используют раствор железоаммонийных квасцов, в 1 мл которого содержится 0,2 мг железа.

В 6 мерных колб на 100 мл помещают определенные объемы стандартного раствора, указанные в таблице:

Номера мерных колб на 100 мл	1	2	3	4	5	6
Объем стандартного раствора, мл	5	10	20	30	40	50
Количество миллиграммов железа в 1 литре (C_x)	50	100	200	300	400	500

Растворы доливают до метки 0,24 н HCl и затем полярографируют так, как это было описано выше при такой же чувствительности, которая применяется при полярографировании железа в исследуемых растворах, и измеряют высоты волн $h_{ст}$. Затем на миллиметровой бумаге строят калибровочный график, откладывая на оси абсцисс величины C_x (в мг Fe/l), а на оси ординат — высоты волн в мм.

Реактивы. 1. Стандартный раствор железа: в мерную колбу на 1 л вносят 50 мл дистиллированной воды и 20 мл концентрированной HCl (уд. вес 1,19) марки «х.ч.», а затем 1,7270 г. железоаммонийных квасцов $Fe_2(SO_4)_3 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 24H_2O$ «х.ч.», растворяют и доливают до метки дистиллированной водой. 1 мл раствора содержит 0,2 мг железа.

2. Аммоний лимоннокислый однозамещенный, $NH_4H_2C_6H_5O_7$ 0,5 М раствор: 105 г реактива («х.ч.») растворяют и доливают до метки дистиллированной водой.

3. Калий щавелевокислый $K_2C_2O_4 \cdot H_2O$, 0,5 М раствор: 92 г реактива марки «х.ч.» растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе на 1 л.

4. Желатина, 0,25%-ный раствор: к 0,25 г желатины прибавляют 100 мл дистиллированной воды, оставляют на ночь (для набухания), а затем нагревают на кипящей водяной бане до полного растворения.

5. Азот в баллоне.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРОТИНА В СЕНЕ И ДРУГИХ РАСТИТЕЛЬНЫХ КОРМАХ

Принцип определения. Каротин извлекается из растительных кормов авиационным бензином Б—70. Окрашенный каротином сензин сравнивают в колориметре со стандартным раствором азобензола или двуххромовокислого калия.

Оборудование. Ступка с пестиком, прибор для извлечения каротина, который представляет собой суженную внизу стеклянную трубку длиной 12—16 см и диаметром 1—1,5 см, мерный цилиндр, колориметр типа Дюбоска, техно-химические весы и прокаленный песок.

Реактивы. Безводный сернокислый натрий; окись алюминия влажностью 10—12%. Искользуванную окись алюминия восстанавливают, прокаливая ее тонкий слой в фарфоровой чашке на

электрической плитке и в муфеле до полного сгорания всех органических частиц и до получения белой окраски порошка.

Бензин с точкой кипения 70—80°; стандартный раствор азобензола (145 мг азобензола в 1 л 96° спирта), окраска которого соответствует содержанию в 1 мл 0,00235 мг каротина, или 0,072%-ный водный раствор двуххромового калия, окраска которого соответствует содержанию в 1 мл 0,00416 мг каротина.

Мод определения. 5—10 г корма, отвешенного из средней пробы на техно-химических весах с точностью до 0,01 г, переносят в ступку и растирают с промытым и прокаленным песком (около 10 г). Навеску влажных кормов растирают в ступке с 5—10 г безводного сернокислого натрия.

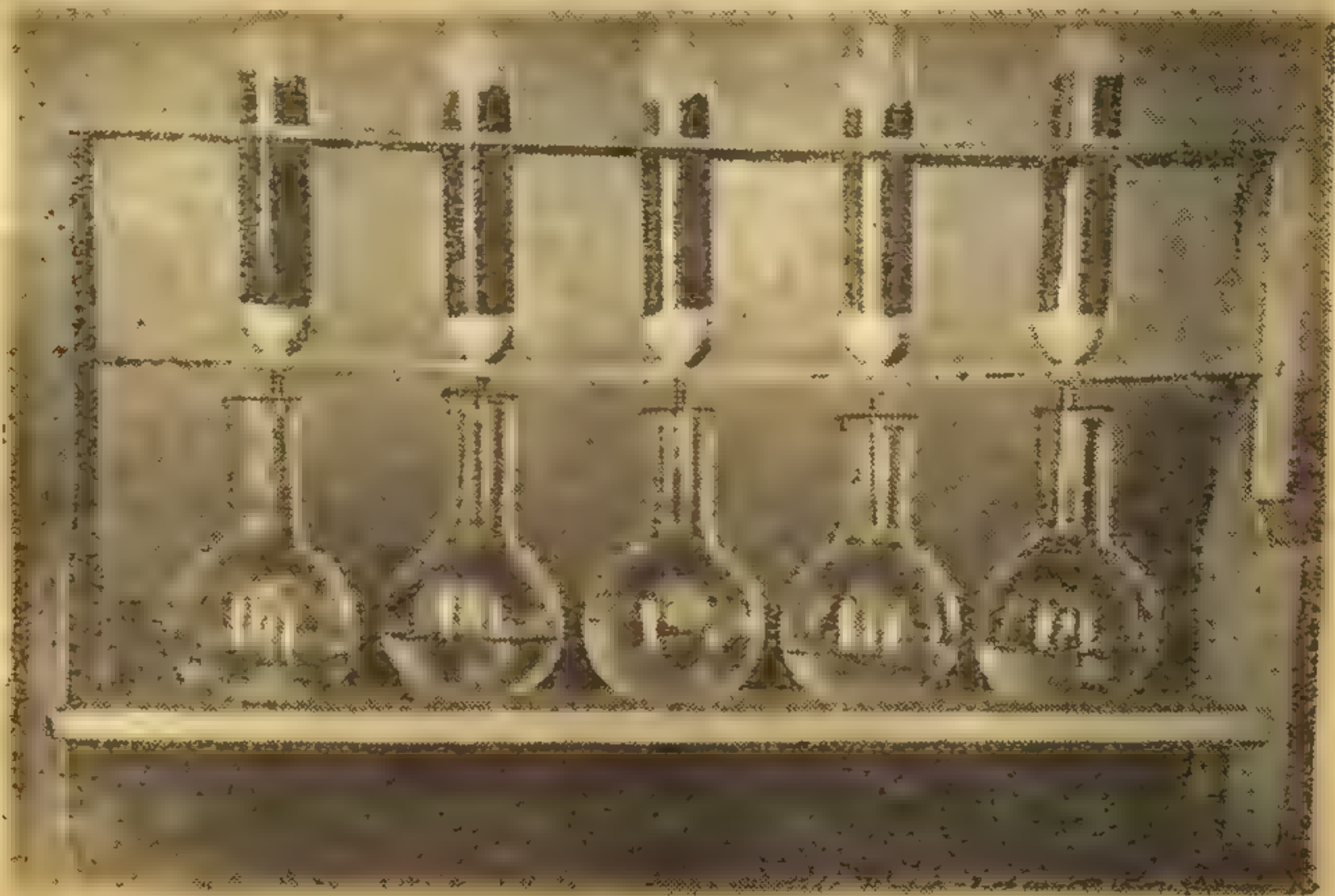


Рис. 57. Штатив с колонками для экстрагирования каротина из проб кормов

После получения более или менее однородной массы прибавляют туда около 5 г окиси алюминия или окиси магния, или окиси кальция и снова растирают.

Смесь переносят в стеклянную колонку прибора для извлечения каротина (рис. 57). В узкую часть колонки предварительно плотно вставляют кусочек ваты, поверх которой насыпают слой в 1,5—2 см окиси алюминия или окиси магния, или окиси кальция. Затем наливают столько бензина, чтобы поверх смеси постоянно находился слой бензина.

Через несколько минут из колонки начинает вытекать бензин, окрашенный каротином в желтый цвет. Промывают до тех пор, пока из колонки не начнут вытекать капли неокрашенного бензина.

Полноту извлечения каротина проверяют так: переливают в измерительный цилиндр окрашенный бензин и продолжают собирать порции его. Если они бесцветны, извлечение прекращают. Если заметна желтоватая окраска, то его сливают в измерительный прибор.

Раствор каротина колориметрируют в колориметре типа Дюбоска, причем стандартный раствор лучше устанавливать на уровне 10 мм, а испытуемый — в пределах 8—12 мм. При таком соотношении интенсивности окраски слоев сравниваемых жидкостей получаются точные результаты. При более интенсивной окраске раствора каротина его разбавляют небольшими порциями чистого бензина. При слабой окраске осторожно выпаривают на водяной бане или лучше извлекают каротин из большей навески корма.

Вычисляют содержание каротина по следующей формуле (при стандартном азобензоловом растворе):

$$K = \frac{2,35 \cdot A \cdot B_1}{v \cdot b},$$

где K — содержание каротина, миллиграммов, в 1 г исследуемого корма;

A — объем бензинового экстракта, мл;

B_1 — высота слоя стандартного раствора, мм;

v — тоже для испытуемого бензинового раствора каротина;

b — навеска корма, г.

При использовании в качестве стандарта раствора двуххромовокислого калия в формуле вместо коэффициента 2,35 надо брать коэффициент 4,16.

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРОТИНА В СЕНЕ (по Нестеровой)

Принцип метода. Тщательно измельченная навеска сена обрабатывается небольшими порциями авиационного бензина. При этом каротин и другие окрашенные вещества (пигменты) переходят в раствор и окрашивают бензиновую вытяжку в зеленовато-буроватый цвет.

Для отделения каротина от других пигментов вытяжку пропускают через стеклянную колонку, наполненную адсорбентом (Al_2O_3 , CaO и др.). Раствор каротина проходит без изменения.

Затем сравнивают интенсивность окраски раствора со специальной стандартной шкалой, состоящей из 4 пробирок с окрашенными растворами. На каждой написано, скольким миллиграммам каротина в 1 кг сена соответствует ее цвет. Навеска сена должна быть равна 3 г, объем бензиновой вытяжки—60 мл.

Оборудование и реактивы. Аптекарские весы, разновесы и мерный цилиндр или баночка, колбочка, стаканчики или бюксы для настаивания сена с бензином, авиационный бензин с температурой кипения $70-80^{\circ}$, адсорбенты (окись алюминия или другие), стандартная шкала.

Техника исследования. Пробу сена раскладывают тонким слоем на чистом полу, делят на 8—12 квадратов и половину из них (через один) отбрасывают. Остаток измельчают как можно мельче на соломорезке или иным способом, затем раскладывают на полу или брезенте, делят на квадратики, половину которых также отбрасывают. Так поступают несколько раз, пока вес средней пробы будет 100—200 г. Дальше измельчают машиной для резки табака, ножницами для стрижки овец или лабораторной мельницей¹.

Затем на аптекарских или техно-химических весах отвешивают 3 г сена, которое тщательно растирают в фарфоровой ступке с чистым мелким стеклом или промытым и прокаленным песком. Смесь переносят в колонку прибора, куда предварительно насыпают слой окиси алюминия (адсорбента), и слегка утрамбовывают стеклянной или чистой деревянной палочкой. Ступку и пестик обмывают небольшим количеством (15 мл) бензина, который также сливают в колонку.

Из колонки вытекает желтоокрашенный раствор каротина, а все остальные красящие вещества задерживаются (адсорбируются) на поверхности окиси алюминия или окиси кальция.

В колонку непрерывно наливают небольшие (10 мл) порции свежего бензина до тех пор, пока объем бензиновой вытяжки в приемнике (мерный цилиндр) будет равняться 60 мл. Каждая порция бензина заливается после того, как стечет предыдущая. Последние капли стекающего бензина должны быть бесцветными.

Если нет мерного цилиндра, то колонку с окисью алюминия надо вставить с помощью ватной пробки в горло баночки или колбочки. До начала работы на этой колбочке надо сделать метку, показывающую объем 60 мл.

Если сено богато каротином, то определение его удобнее проводить после предварительного настаивания навески (3 г) сена с бензином. В этих случаях поступают так: хорошо растертое сено помещают в стаканчик с носиком или баночку, заливают 15—20 мл бензина и оставляют на 2—3 часа или на ночь. Стаканчик прикрывают часовым стеклом. После настаивания раствор осторожно сливают в колонку прибора, наполненную адсорбентом, затем туда же переносят и навеску сена. Стаканчик 2—3 раза ополаскивают небольшими порциями (10 мл) свежего

¹ Такой порядок отбора кормов принят для всех химических исследований.

бензина, который также сливают в колонку с адсорбентом. В колонку аппарата повторно наливают небольшие порции (5—10 мл) свежего бензина до тех пор, пока объем бензиновой вытяжки в приемнике будет равняться 60 мл.

Количество каротина в бензиновой вытяжке определяют, сравнивая интенсивность окраски ее с окраской пробирок стандартной шкалы.

Окраска соответствует следующим количествам каротина в 1 кг сена: пробирка № 4—10 мг, № 3—20, № 2—30 и пробирка № 1—40 мг.

Приготовление стандартной шкалы

а) из азобензола. Растворяют 145 мг азобензола в 500 мл спирта. Из этого основного раствора готовят следующую шкалу:

Номер пробирки	Содержит		Общий объем (мл)	Соответствует мг каротина в 1 кг сена
	основного раствора	спирта (мл)		
4	1,01	8,99	10,0	10
3	2,13	7,87	10,0	20
2	3,19	6,81	10,0	30
1	4,25	5,75	10,0	40

б) из двуххромовокислого калия. Из основного раствора 720 мг $K_2Cr_2O_7$ в 1 л дистиллированной воды готовят шкалу:

Номер пробирки	Взять основного раствора (мл)	Долить водой (мл)	Общий объем (мл)	Соответствует мг каротина в 1 кг сена
1	4,81	5,19	10,0	41,0
2	3,63	6,37	10,0	29,0
3	2,41	7,59	10,0	20,8
4	1,20	8,80	10,0	10,4

Все пробирки стандартной шкалы и прилагаемые к ней 2 пустые пробирки для исследуемой вытяжки должны быть из бесцветного стекла одного диаметра. Стандартные пробирки запаиваются стеклотуфом или плотно закрываются резиновыми пробками и хранятся в коробочке без доступа света, чтобы не выцветали. Готовить стандартную шкалу надо тщательно. Приготовленные для стандартной шкалы растворы проверяют колориметром (№ 1 и № 2).

ВИЗУАЛЬНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА В₁ В КОРМАХ

Приготовление 10%-ного раствора диастазы
(по Девятнину)

Хлебные дрожжи растирают с 3 весовыми частями ацетона. Через 30 минут массу отфильтровывают, осадок на фильтре промывают 3—4 раза ацетоном и высушивают на фильтровальной бумаге. Высушенный осадок промывают 3—5 порциями по 50 мл 0,1 н раствора фосфата натрия; на 1 г осадка — 50 мл раствора, каждый раз суспендируют осадок, растирают его с раствором, и центрифугируют. Промытый осадок суспендируют 0,1 М раствором фосфата натрия NaH_2PO_4 pH — 3,7. К смеси добавляют несколько капель толуола и хранят в холодном месте. Раствор сохраняет активность 2—3 недели.

1. Изобутиловый спирт с температурой кипения 108°, изоамиловый спирт — 130° или бутиловый спирт — 117°. Спирт проверяют на отсутствие флуоресценции. Если флуоресценция есть, спирт обрабатывают активированным углем (15 г на 1 л спирта) путем энергичного встряхивания в течение 30 минут и фильтруют, высушивают над CaCl_2 и отгоняют в пределах температуры кипения.

2. Ферментный препарат из мицелия грибка пенициллиум с диастазой 10% (*p. notatum*, *p. crustosum*, *p. chrysogenum*). Свежий мицелий грибка хорошо отжимают на лабораторном прессе и высушивают при температуре не выше 45°. Употребляют для осветления вытяжек или освобождения связанного тиамина.

3. Приготовление стандарта. 10 таблеток, содержащих по 1 г кристаллического тиаминбромиды или тиаминхлорида, растворяют в 0,001 н 25%-ном спиртовом растворе HCl в мерной колбе на 100 мл. Раствор устойчив в течение 1—1,5 месяца при хранении в темной склянке в прохладном месте.

Перед анализом готовят рабочий раствор разведением 1 мл основного до 100 мл водсй. В 1 мл рабочего раствора содержится 1 мг тиамина.

4. Приготовление стандартной шкалы. Из рабочего раствора готовят несколько эталонов шкалы. Для этого в делительных воронках на 50 мл к 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5 и 2 мл раствора, содержащего 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5 и 2 мг тиамина, прибавляют 3,5; 3,25; 3; 2,75; 2,5 и 2 мл воды по 0,1 мл 1%-ного водного раствора $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, приготовленного в день анализа, и по 3 мл 15%-ного водного раствора NaOH, быстро перемешивают, добавляют из макробюретки по 10 мл изобутилового, изоамилового или бутилового спирта, встряхивают в течение двух минут и после разделения слоев удаляют нижний водно-щелочной слой, спиртовой слой фильтруют через бумажный фильтр, в конце которого помещают около 1 г безводного сернокислого натрия, и прозрачный фильтрат переносят в пробирку.

Полученная шкала является стандартной, она устойчива в течение 2—3 недель при хранении в темном прохладном месте.

Для анализа проб с небольшим количеством тиамин готовят шкалу с 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 мг тиамин.

Техника метода. Навеску испытуемого материала, обычно 5—10 г в зависимости от ожидаемого содержания витамина, тщательно растирают в ступке с 10—25 мл 0,1 н раствора серной кислоты, переносят в колбу, доводят объем тем же раствором приблизительно до 75 мл. Колбу помещают в кипящую баню на 45 минут, время от времени перемешивая ее содержимое. Охлаждают до 35—40° и добавляют взвесь мицеллия грибка пенициллиум из расчета 0,03 г мицеллия на 1 г сухого вещества навески. Для этого навеску мицеллия растирают в ступке с 2—3 мл 2,5 н раствора уксуснокислого натрия, переносят в колбу, доводя рН вытяжки в колбе раствором уксуснокислого натрия до 5. После этого колбу помещают на 12—15 часов в термостат при 38°. Затем содержимое колбы доводят водой до 100 мл и фильтруют, 15—25 мл фильтрата обрабатывают в делительной воронке. 1—2 раза равным объемом изобутилового, изоамилового или бутилового спирта (для удаления флуоресцирующих примесей) и энергично встряхивают в течение 1—2 минут. Слой спирта удаляют, а из очищенной вытяжки отбирают в 3—4 делительных воронки емкостью 25—50 мл пробы по 4 мл; к ним прибавляют 1%-ный раствор $K_3Fe(CN)_6$ в разных количествах, например, 0,05; 0,1; 0,2 мл, и по 3 мл 15%-ного раствора NaOH (избыток или недостаток окислителя, добавляемого к вытяжке, ведет к частичному разрушению или неполному окислению тиамин). Смесь в воронке быстро перемешивают, добавляют к ней из макробюретки 10 мл изобутилового, бутилового или изоамилового спирта для экстракции тиохрома и встряхивают воронку в течение 2 минут.

Смеси дают отстояться до полного разделения слоев. Затем воднощелочной слой удаляют, а спиртовой фильтруют через бумажный фильтр с безводным Na_2SO_4 , наливают в пробирку для испытания флуоресценции на флуороскопе. При просмотре пробирок с испытуемым раствором останавливаются на той, у которой более яркая флуоресценция, и сравнивают ее с эталонами стандартной шкалы.

Примечание. Мицелий пенициллиума содержит витамины B_1 , B_2 и др. Это обстоятельство необходимо учитывать при работе с ним и в отдельной пробе определять их количество, вычитая эту величину из результатов анализа.

Количество тиамин, мг%, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V_1 \cdot 100}{a \cdot V \cdot 1000},$$

где a — навеска, г;

V — объем вытяжки, взятой на окисление, мл;

C — количество тиамина, мг, в эталоне стандартной шкалы, флуоресценция которого сходна с флуоресценцией вытяжки;

V_1 — объем, до которого доведена навеска, мл;

100 — пересчет в проценты;

1000 — пересчет в миллиграммы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С¹

При исследовании свежего растительного материала можно применять упрощенный метод определения витамина С (аскорбиновой кислоты), при котором солянокислая вытяжка октитруется 2—6-дихлорфенолиндофенолом.

Приборы, посуда, реактивы. Техно-химические весы, ступка фарфоровая с пестом большого диаметра, стеклянный порошок (битое, нейтральное, отмученное и высушенное стекло), мерная колба на 100 мл, воронка с бумажным фильтром, пипетки мерные, микробюретки, 2%-ный раствор соляной кислоты, 0,001 н раствор дихлорфенолиндофенола.

Растворяют 0,2 г дихлорфенолиндофенола в 600 мл дистиллированной воды при сильном взбалтывании. Раствор фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу и разбавляют до 1 л. Раствор хранят в течение 7 дней.

Более устойчив при хранении раствор индофенола, приготовленный из буферной смеси. Такой раствор может быть годен для употребления в течение 1,5 месяца. В начале растворяют 0,2 г индофенола в 700 мл дистиллированной воды при сильном взбалтывании. К этому раствору добавляют 300 мл буферной смеси. Для приготовления буферной смеси готовят два раствора: «а» — 0,908 г монофосфата калия в 100 мл воды, «б» — 2,9687 г динатрифта натрия в 250 мл воды. Смешивают 90 мл раствора «а» и 210 мл раствора «б» и после фильтрации добавляют 0,01 н раствора соли Мора.

В литровой мерной колбе в 0,01 н растворе серной кислоты растворяют по общим правилам 3,92 г соли Мора. Насыщенный раствор щавелевокислого натрия или аммония; серная кислота уд. веса 1,84; 0,01 н раствор перманганата калия; 0,01 н раствор щавелевокислого аммония или щавелевой кислоты, или же щавелевокислого натрия.

Ход определения. Вначале определяют поправку к титру 0,001 н раствора 2—6-дихлорфенолиндофенола. Для этого к 10 мл приготовленного раствора индофенола добавляют 5 мл насыщенного раствора щавелевокислого натрия или аммония и титруют из микробюретки 0,01 н раствором соли Мора до отчетливого перехода синей окраски в лимонно-желтую.

¹ «Лабораторные методы исследования в ветеринарии», т. II, Сельхозгиз, М., 1954.

К 10 мл 0,01 н раствора соли Мора добавляют 5 капель серной кислоты и титруют 0,01 н раствором KMnO_4 до появления слабо-розового окрашивания.

К 10 мл точного 0,01 н раствора щавелевокислого аммония (щавелевой кислоты, щавелевокислого натрия) добавляют 5 капель крепкой серной кислоты, подогревают до появления пузырьков (что соответствует температуре около 80°) и титруют 0,01 н раствором KMnO_4 до слабо-розового окрашивания.

Поправку к титру индофенола (А) определяют по формуле:

$$A = \frac{B_1 \cdot B_2}{B_3},$$

где B_1 — количество миллилитров раствора соли Мора, затраченное на титрование 10 мл раствора индофенола;

B_2 — количество миллилитров раствора перманганата, пошедшее на титрование 10 мл раствора соли Мора;

B_3 — количество миллилитров раствора перманганата, пошедшее на титрование 10 мл раствора щавелевокислого аммония щавелевой кислоты или щавелевокислого натрия.

Титр индофенола можно устанавливать и по навеске кристаллической аскорбиновой кислоты (несколько миллиграммов).

Для определения количества витамина С в корме берут навеску от 10 до 50 г. Величина навески зависит от предполагаемого содержания витамина С (большая навеска для кормов, бедных витамином). Корм помещают в фарфоровую ступку большого диаметра и тщательно растирают нестом с 5 мл 2%-ного раствора соляной кислоты, добавляя 10 г стеклянного порошка. После получения довольно однородной массы содержимое ступки без потерь переносят в мерную колбу на 100 мл. Ступку и пестик несколько раз обмывают небольшими порциями воды и сливают в колбу. Доводят вытяжку в колбе водой до метки.

После перемешивания содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр. Из полученного фильтрата отбирают в колбочку или стаканчик от 1 до 10 мл (в зависимости от предполагаемого количества витамина) и титруют 0,01 н раствором 2-6-дихлорфенолиндофенола до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 0,1—1 минуты.

Расчет. Содержание витамина С в исследуемом корме, г на 1 кг его, вычисляется по формуле:

$$X = \frac{B \cdot 0,088 \cdot B_1 \cdot 1000}{a \cdot B_2 \cdot 1000},$$

где B — количество миллилитров точного (с внесенной поправкой) 0,001 н раствора индофенола;

0,088 — количество миллиграммов аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 н раствора индофенола;

V_1 — объем, до которого была доведена навеска;

a — навеска корма, г;

V_2 — количество миллилитров вытяжки, взятое для титрования;

1000 (в числителе) — пересчет на 1 кг;

1000 (в знаменателе) — перевод мг в г.

При исследовании кормов, хранившихся длительное время, также силосованных, необходимо применять свинцово-сероводородный метод, при котором вытяжка дополнительно обрабатывается уксуснокислым свинцом для удаления посторонних редуцирующих веществ, и после восстановления дегидроаскорбиновой кислоты сероводородом содержание витамина С определяется титрованием дихлорфенолиндофенолом.

В дополнение к перечисленным выше приборам, посуде и реактивам требуются: аппарат Киппа для получения сероводорода, заряженный сернистым железом (или сернистым натром) и соляной кислотой, разведенной водой 1:1, аппарат Киппа для получения углекислоты, заряженный мраморной крошкой (кусочками около 1 см в поперечнике) и соляной кислотой, разбавленной водой 1:1 (можно пользоваться сероводородом и углекислотой из баллонов, снабженных кранами для понижения давления), 5%-ный раствор уксусной кислоты, химически чистый углекислый кальций, 5%-ный раствор уксуснокислого свинца на 5%-ной уксусной кислоте, полоски фильтровальной бумаги, смоченные раствором уксуснокислого свинца и высушенные.

Ход определения. Чтобы получить вытяжку из исследуемого корма, применяют те же приемы, которые описаны выше, но вместо 2%-ного раствора соляной кислоты пользуются при растирании и экстракции 5%-ным раствором уксусной кислоты.

В химический стаканчик отмеривают 10 мл фильтрата и вносят туда 0,4 г химически чистого углекислого кальция. При этом происходит выделение углекислого газа. После прекращения выделения пузырьков газа в стаканчик наливают 5 мл 5%-ного раствора уксуснокислого свинца. Жидкость в стаканчике хорошо перемешивают и быстро фильтруют. Через фильтрат пропускают сероводород для полноты осаждения избытка свинца (выпадает в виде черного осадка сернистого свинца). Фильтруют жидкость от выпавшего осадка. Через полученный бесцветный раствор пропускают углекислоту до полного удаления сероводорода, присутствие которого проверяют по бумажке, пропитанной уксуснокислым свинцом.

Таким образом обработанный фильтрат — 2—10 мл (в зависимости от предполагаемого наличия аскорбиновой кислоты) переносят в химический стаканчик и добавляют туда 2%-ный раствор соляной кислоты в половинном объеме по отношению к взятому для титрования фильтрату.

Титруют 0,01 н раствором индофенола до появления устойчивой розовой окраски, сохраняющейся в течение 0,5—1 минуты.

Содержание аскорбиновой кислоты в 1 кг корма вычисляю по формуле:

$$X = \frac{B \cdot 0,088 \cdot B_1 \cdot B_3 \cdot 1000}{a \cdot B_2 \cdot B_4 \cdot 1000},$$

где B — количество миллилитров точного (с внесенной поправкой) 0,001 н раствора индофенола, затраченное на титрование;

0,088 — количество миллиграммов аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 н раствора индофенола;

B_1 — объем, мл, до которого была доведена навеска;

B_3 — объем вытяжки, мл, после обработки свинцом;

1000 — (в числителе) — пересчете на 1000 г;

a — навеска исследуемого корма, г;

B_2 — объем вытяжки, взятый для обработки свинцом;

B_4 — количество миллилитров вытяжки, взятое для титрования;

1000 (в знаменателе) — перевод мг в г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА Е

Под общим названием витамина Е, содержащегося в продуктах, известен ряд веществ, обладающих витаминными свойствами: α -токоферол, β -токоферол, γ -токоферол, δ -токоферол и др. Из всех токоферолов α -токоферол является наиболее биологически активным.

При определении содержания витамина Е в растительных продуктах обычно определяют общую сумму токоферолов.

По химическим методам определения витамина Е не всегда можно судить о биологической (витаминной) ценности испытуемого продукта, так как все формы токоферолов дают при окислении окрашенные хиноны, а биологическая активность α , β , ψ δ -форм токоферолов различна, кроме того, их соотношения в продуктах также неодинаковы.

Определение суммы токоферолов в растительном материале (по Г. М. Луцевской и Б. Г. Савинову). Метод основан на том, что токоферолы, окисляясь в присутствии хлорного железа, восстанавливают его до хлористого; количество же хлористого железа определяется интенсивностью развивающейся окраски раствора при добавлении α — α' -дипиридила или ортофенаントрина, который дает с двухвалентным железом комплексный ион.

Реактивы и оборудование: 1. Бензол очищают от тиофена, обрабатывают серной кислотой до исчезновения окрашивания с изатином. Для этого в делительную воронку берут 1 л бензола и добавляют 200 мл концентрированной серной кислоты, взбалтывают в течение часа в лабораторной мешалке, слой кислоты сливают и повторяют эту операцию еще раз. Бензол, отделенный от кислоты, промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции на лакмус. Бензол сушат в течение:

12—18 часов над безводным Na_2SO_4 и затем перегоняют на водяной бане при 80° . Очищенный бензол хранят в склянке с притертой пробкой в прохладном месте.

2. Абсолютный этиловый спирт. 96%-ный спирт кипятят на водяной бане в колбе с обратным холодильником и окисью кальция в течение 4—6 часов. Затем спирт отгоняют в изолированный от влаги при помощи хлоркальциевой трубки приемник, соединенный с форштоссом холодильника Либиха. Полученный отгон настаивают с прокаленной CuSO_4 и снова отгоняют безводный спирт, как и первый раз. Реактив хранят в склянке с притертой пробкой.

3. Бензин. В делительную воронку берут 1 л бензина (температура кипения — 80°), прибавляют 100 мл концентрированной H_2SO_4 , энергично встряхивают, слой кислоты сливают, бензин вновь обрабатывают таким же количеством кислоты. Кислоту сливают, бензин промывают 4—5 раз 3%-ным водным раствором NaOH , а затем дистиллированной водой до нейтральной реакции на лакмус. Промытый бензин сушат над CaCl_2 и перегоняют.

4. Раствор хлорного железа 0,2%-ный: 0,2 г сухого препарата $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ растворяют в абсолютном этиловом спирте в мерной колбе емкостью 100 мл. Приготовленный раствор хранят в темноте.

5. Раствор α — α' -дипиридила, 0,5%-ный: 0,5 г α — α' -дипиридила растворяют в абсолютном этиловом спирте в мерной колбе емкостью 100 мл. Раствор хранят в склянке из темного стекла с притертой пробкой. Годен в течение не более месяца.

6. Диатомит (адсорбент). Диатомит настаивают с концентрированной соляной кислотой в течение суток, затем кислоту сливают, заливают 2 н раствором соляной кислоты и кипятят в колбе с обратным холодильником в течение часа. После кипячения кислоту сливают, диатомит промывают водой до нейтральной реакции промывных вод на лакмус (при промывке водой происходит одновременно и отмучивание адсорбента). Затем воду отсасывают на воронке Бюхнера и диатомит промывают спиртом (2—3 раза) и бензином. Диатомит сушат на воздухе или в термостате при 50° . Адсорбент сохраняют в склянке с притертой пробкой. Без повторной активации он пригоден для анализа не более 6 месяцев.

7. α -токоферол синтетический для составления калибровочной кривой (хранят в запаянной в вакууме ампуле на холоду).

8. Безводный Na_2SO_4 .

9. Баллон с углекислым газом или азотом.

10. Чистый кварцевый песок.

11. Ступенчатый фотометр.

12. Ступка фарфоровая.

13. Мерные колбы емкостью 100 мл и 25 мл.

14. Круглодонные колбы емкостью 100 мл.

15. Пипетки на 1 мл.

16. Прибор для перегонки под вакуумом.

17. Адсорбционная колонка высотой 25—30 см с внутренним диаметром 1,0—1,5 см, верхний конец колонки расширен в виде воронки. На нижний конец колонки надевают пробку, которая плотно вставляется в колбу Бунзена. Перед анализом в нижний суженный конец колонки помещают кусочек ваты, довольно плотно входящий, заполняют небольшими порциями адсорбента при разряжении. При навеске корма в 1 г высота слоя адсорбента должна быть 1—1,5 см, для навесок до 5 г — до 3 см. Поверх слоя адсорбента помещают безводный сернокислый натрий слоем 0,5 см.

Процесс определения: 1. Берут навеску свежего растительного материала 1—5 г (оптимальным для точности анализа количеством токоферолов в пробе является 0,15—0,35 мг), растирают в ступке с кварцевым песком до однородной массы.

2. В ступку добавляют 2—8-кратное количество безводного Na_2SO_4 и массу вновь растирают.

3. Добавляют в ступку при размешивании небольшое количество бензола до образования жидкой однородной кашицы.

4. Содержимое ступки количественно переносят бензолом в адсорбционную колонку.

5. После того как адсорбент впитал в себя почти весь окрашенный экстракт, количество бензола, равное 15—20 мл, гарантирует элюирование всего токоферола.

6. Фильтрование через диатомит при слабом разрежении, создаваемом водоструйным насосом, проходит быстро. Для полного элюирования токоферола нужно дать возможность синесокращенной зоне каротина спуститься до самого низа колонки, но не допускать попадания в фильтрат. Фильтрат получается бесцветный и прозрачный.

7. Фильтрат количественно переносят в круглодонную колбу емкостью 100 мл и растворитель отгоняют под вакуумом в токе углекислого газа или азота на водяной бане.

8. После удаления растворителя маслянистый остаток в той же колбе растворяют в 5 мл чистого бензина и сливают в мерную колбу емкостью 25 мл, колбу несколько раз ополаскивают маленькими порциями абсолютного спирта, сливая промывную жидкость в ту же колбу.

9. К содержимому колбы добавляют 1 мл раствора FeCl_3 и хорошо перемешивают.

10. Туда же добавляют 1 мл α — α' -дипиридила. При наличии токоферолов раствор начинает окрашиваться в красный цвет.

11. Содержимое колбы доводят до метки абсолютным спиртом и оставляют в темноте на 15 минут.

12. Интенсивность окраски раствора измеряют в ступенчатом фотометре со светофильтром S-50. Одну из кювет высотой 1 см наполняют испытуемым раствором, другую — контрольным (реактивы включая бензин, абсолютный спирт, растворы хлорного железа и дипиридила взяты в том же количестве, как и для получения испытуемого раствора). По барабану отсчитывают величину E (экстинкция). На калибровочной кривой, построенной по стандартному раствору α -токоферола, находят количество миллиграммов токоферолов в 25 мл раствора, соответствующее найденной величине E .

Содержимое токоферолов в мг% в исследуемом объекте (x) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C}{10 \cdot a},$$

где C — количество токоферола, найденное по калибровочной кривой, мг;

a — навеска растительного вещества, г;

10 — постоянный коэффициент.

Для построения калибровочного графика точную навеску в 50 мг α -токоферола растворяют бензином в мерной колбе емкостью 250 мл (1 мл полученного раствора содержит 200 мкг α -токоферола).

Для определения точек калибровочного графика из полученного раствора отбирают пипеткой последовательно 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 мл полученного раствора α -токоферола в мерные колбочки емкостью 25 мл и добавляют бензин с таким расчетом, чтобы общий объем был равен 5 мл. Далее добавляют те же реактивы и в такой же последовательности, как и при определении витамина E ($FeCl_3$ и α - α' -дипиридил). Объем раствора быстро доводят абсолютным спиртом до метки 25 мл. Оставляют в темноте на 15 минут и интенсивность окраски измеряют в ступенчатом фотометре со светофильтром S-50. Для приведения прибора к нулю пользуются контрольным раствором, содержащим все реактивы без α -токоферола.

При отсутствии ступенчатого фотометра можно использовать электрофотоколориметр со светофильтром 490 мμ.

При скармливании рационов, богатых жирами, повышается потребность в витамине E. Витамин E — один из наиболее важных противooksислительных веществ, тормозящих прогоркание жиров.

В случае, если в рационы цыплят входят корма, имеющие порчу в результате несвоевременного сбора урожая или плохого хранения, потребность в витамине E возрастает. Содержание витамина E указано в приложении, таблица 7.

ВОДА И ЕЕ АНАЛИЗ

ПРИРОДНАЯ вода не бывает совершенно чистой: в ней всегда содержатся различные примеси, определяющие ее качество и пригодность для тех или иных целей. Контроль за качеством питьевой воды осуществляют районные санитарно-эпидемиологические станции. Однако часто вода, потребляемая животными, не проверяется, и это является причиной различных заболеваний.

Так, затхлая или содержащая большое количество сульфатов и нитратов вода может вызвать аборт у животных и расстройство кишечника, а у молочного скота, кроме того, снизить качество молока. Наличие в воде медных, свинцовых, цинковых соединений иногда является причиной падежа животных. В связи с этим воду, предназначенную для сельскохозяйственных животных, следует считать пригодной только в том случае, если она по своим качествам мало чем отличается от используемой человеком. Нормальное содержание кислорода в воде — 5—8 см³ на 1 л.

При исследовании воды большое значение придают окисляемости. Этот показатель, говорящий о наличии большого количества органических веществ в воде, свидетельствует об уменьшении содержания кислорода, идущего на окисление этих веществ.

Допустимой считают окисляемость, если количество кислорода не превышает 20 мг в 1 л воды.

Содержание растворенных примесей в воде очень колеблется в зависимости от времени года, количества атмосферных осадков, состояния грунтовых вод, попадания в водоемы сточных вод и других причин.

Требования, предъявляемые к питьевой воде, следующие.

Запах и привкус при температуре 20°, баллы	2
Цветность по шкале, градусы	20
Прозрачность по шрифту, см	30
Общая жесткость, мг/экв на 1 л	7
Содержание свинца, мг на 1 л	0,1
Содержание мышьяка, мг на 1 л	0,05
Содержание фтора, мг на 1 л	1,5
Содержание цинка, мг на 1 л	5,0
Содержание железа, мг на 1 л	0,3
Активная кислотность, pH	6,5—9,5
Сухой остаток (после выпаривания), мг/л	500
Органические вещества, мг/л	40
Хлориды, мг/л	40
Сульфаты, мг/л	60
Нитраты, мг/л	20
Нитриты, мг/л	0
Аммиак, мг/л	0

ОТБОР ПРОБ ВОДЫ ДЛЯ АНАЛИЗА

Для взятия пробы из водопроводов предварительно спускают воду в течение 10—15 минут. На водопроводный кран надевают резиновую трубку, конец ее опускают в стеклянный сосуд до дна. Кран закрывают не сразу после того, как наполнится сосуд.

Из колодцев с насосами перед отбором пробы воду откачивают в течение 10—15 минут, затем накачивают в посуду с краном или сифоном и уже оттуда переливают ее в сосуд тем же способом, что и при взятии пробы из водопроводного крана.

Из колодцев без насосов, рек и ручьев пробы берут не с поверхности, а с глубины 0,75—1 м, пользуясь особыми приспособлениями (отборными приборами-барометрами) или, в крайнем случае, погружают в водоем сосуд, закрытый пробкой с веревочкой. Благодаря грузу сосуд опускается на нужную глубину. Из рек и ручьев пробы отбирают в нескольких местах: вблизи берегов и в середине реки.

Воду, предназначенную для поения животных, надо исследовать не позднее, чем через 72 часа после взятия пробы — для вод чистых, 48 — средней чистоты и 12 часов — грунтовых.

При полном анализе питьевых вод для пробы берут 5 л, при сокращенном — 2—3 л.

Если для доставки воды в лабораторию требуется больше 5 часов, необходимо позаботиться, чтобы она не замерзала и не подогревалась.

ФИЗИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прозрачность. Для определения прозрачности воды применяют прибор, представляющий собой градуированный цилиндр с краном и отъемным плоским дном. Дно удерживается металлическими зажимами, герметичность достигается при по-

мощи резиновой прокладки. Иногда дно цилиндров бывает и не-
отъемное.

Сосуды устанавливают на подставках высотой 40 мм. Под
цилиндр подкладывают лист бумаги с печатным текстом (шрифт
печатного текста установлен стандартом).

Исследуемую воду в сосуд наливают небольшими порциями,
пока через ее столбик нельзя будет читать подложенный печат-
ный текст. Затем подливают воду и понемногу спускают ее до
тех пор, пока не появится возможность вновь читать текст.

Если все делается правильно, объем воды в первом и во вто-
ром случае должен быть одинаковым.

Предельная высота воды, при которой можно читать печат-
ный текст, выраженная в сантиметрах, и дает представление о
прозрачности.

Определение проводят при хорошем освещении, но не на пря-
мом солнечному свету. Для контроля желательно иметь другой
такой же сосуд с дистиллированной водой.

Цвет. Окраску воды определяют, сравнивая исследуемый
образец со шкалой приготовленных стандартных растворов, и
выражают в градусах цветности.

Профильтрованную воду наливают в стеклянный цилиндр
емкостью 100 мл. Стекло и диаметр цилиндра должны быть та-
кими же, как и у шкалы цветности.

Таблица цветности воды

№ п/п.	Количество раствора (мл)		Градусы цветности	№ п/п.	Количество раствора (мл)		Градусы цветности
	№ 1	№ 2			№ 1	№ 2	
1	0	100	0	7	6	94	30
2	1	99	5	8	8	92	40
3	2	98	10	9	10	90	50
4	3	97	15	10	12	88	60
5	4	96	20	11	14	86	70
6	5	95	25	12	16	84	80

Шкалу цветности готовят из двух растворов — № 1 и
№ 2.

Для приготовления раствора № 1 отвешивают на аналитиче-
ских весах 0,087 г двуххромовокислого калия и 2 г сернокислого
кобальта. Навески помещают в литровую мерную колбу, доли-
вают наполовину объема дистиллированной водой, осторожно
взбалтывают до растворения содержимого, добавляют пипеткой
1 мл химически чистой серной кислоты (уд. вес 1,84) и доливают
дистиллированной водой до метки.

Для приготовления раствора № 2 в мерную колбу емкостью 1 л наливают немного воды, добавляют 1 мл химически чистой серной кислоты и добавляют дистиллированной воды до метки. Смешивая растворы в определенных соотношениях, готовят шкалу цветности. Образцы шкалы цветности сохраняют в герметически закрытых цилиндрах емкостью 100 мл.

Запах. Первое определение запаха делают на месте взятия пробы.

В лаборатории запах воды определяют при 20° и 40°, для чего пробу выдерживают при 20° около часа, затем наливают в коническую колбу емкостью 100 мл, закрывают часовым стеклом, встряхивают несколько раз и, открыв, нюхают. Эту же колбу, закрытую стеклом, нагревают до 40°, затем, сняв с огня, встряхивают и, быстро открыв колбу, определяют запах.

Необходимо иметь в виду, что при многократном повторении опыта обоняние притупляется.

Для характеристики запаха пользуются принятыми определениями: травянистый, болотный, гнилой, тухлый, затхлый, землистый, рыбный и др. Силу запахов выражают в баллах, пользуясь следующей шкалой:

запаха нет совсем	0
запах обнаруживается в лаборатории опытным путем	1
запах ощущается, если на это обратить внимание	2
запах, ощущаемый каждым человеком	3
запах, обращающий на себя внимание	4
запах явный, позволяющий без дальнейшего исследования признать воду недоброкачественной	5

В журнал записывают оценку воды в виде дроби, числителем которой является оценка запаха при 20°, знаменателем — при 40°.

Вкус. Перед определением вкуса воду кипятят, затем набирают в рот маленькими порциями, не проглатывая. Температура воды должна быть комнатной.

Вкусовые ощущения могут быть различные: вода бывает соленая, горькая, сладкая, кислая, горько-соленая, кисло-сладкая, щелочная и т. д.

Взвешенные вещества. Фильтруют один литр воды через высушенный до постоянного веса фильтр. Затем фильтр вместе с воронкой ставят в сушильный шкаф и подсушивают чтобы его можно было свободно вынуть из воронки; затем фильтр помещают во взвешенный сушильный стаканчик и досушивают до постоянного веса при 100—105°. Содержание взвешенных веществ (мг на 1 л) определяют по формуле:

$$X = \frac{B - A}{O} \cdot 100,$$

где B — вес фильтра со взвешенным веществом, г;

A — вес чистого фильтра, г;

O — объем воды, взятой для определения, л.

Реакция воды. Качественное определение реакции проводят, опуская в воду красную и синюю лакмусовую бумагу. При кислой реакции ведут дополнительное испытание с метиловым оранжевым, при щелочной — с фенолфталеином. Для нормальной питьевой воды характерна нейтральная или слабощелочная реакция. Воду, имеющую кислую реакцию, можно применять, если она содержит большое количество свободной углекислоты гуминовых кислот.

КАЧЕСТВЕННОЕ ИСПЫТАНИЕ ВОДЫ

При проведении качественных испытаний химического состава воды рекомендуют пользоваться эталонными растворами, содержащими предельно допустимую концентрацию того иона, присутствие которого определяют. Для контроля целесообразно пользоваться дистиллированной водой.

При определении берут три пробирки, в которые наливают одинаковое количество исследуемой воды, дистиллированной и эталонного раствора. Во все три пробирки добавляют одинаковые количества реактива и сравнивают полученные результаты, решая затем вопрос о пригодности воды для тех или иных целей.

Определение нитрит-иона. Берут 10 мл воды, добавляют 0,5 мл реактива Грисса и нагревают до 70—80°. В присутствии нитрит-иона появляется розовое окрашивание.

Приготовление реактива Грисса. 0,5 г сульфаниловой кислоты $\text{HSO}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ растворяют при охлаждении в 150 мл 12%-ной уксусной кислоты; 0,2 г нафтиламина $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}_2$ кипятят с 20 мл дистиллированной воды и к бесцветному раствору, слитому с осадка, прибавляют 150 мл 12%-ной уксусной кислоты. Оба полученных раствора смешивают перед определением, беря по 0,25 мл каждого.

Приготовление эталонного раствора. 0,0678 г нитрата натрия (NaNO_2) растворяют в 1 л воды; 1 мл этого раствора разбавляют водой (до 1 л); 1 мл полученного раствора содержит 0,05 мг нитрит-иона в литре. На практике количество нитратов в воде не определяют, так как любое содержание их в питьевой воде не допускается.

Определение нитрат-иона. 10 мл воды выпаривают досуха и сухой остаток смачивают 1 мл сульфифенолового реактива. Через 5 минут смесь смывают небольшими порциями воды в пробирку и прибавляют 5 мл 25%-ного раствора аммиака. В присутствии нитрат-иона появляется желтое окрашивание.

Приготовление сульфифенолового реактива: 3 г чистого бесцветного фенола смешивают с 37 г серной кислоты (уд. вес 1,84) и нагревают на кипящей водяной бане в те-

чение 6 часов. Чтобы серная кислота не поглощала водяных паров из воздуха, нагреваемую колбу закрывают пробкой со вставленной в нее длинной трубкой, оттянутой вверх в капилляр. Раствор хранят в темной склянке в темноте.

Определение иона аммония. В пробирку наливают 10 мл исследуемой воды, прибавляют 1—2 капли разбавленного (1:2) едкого натрия и 2—3 капли разбавленного (1:2) раствора соды. Содержимое пробирки взбалтывают, дают отстояться, сливают прозрачный раствор в другую пробирку и прибавляют к нему 4—6 капель реактива Несслера (приготовление реактива см. стр. 190). В присутствии иона аммония появляется желто-бурое окрашивание или осадок.

Приготовление эталонного раствора. 0,0015 г хлористого аммония растворяют в 1 л дистиллированной воды. Полученный раствор содержит 0,5 мг иона аммония в 1 л.

Практически количественное определение иона аммония не ведется, так как в питьевой воде не допускается содержание аммиака.

Определение сероводорода. К 10 мл исследуемой воды добавляют 1 мл 2 н раствора соляной кислоты. Стежки пробирки выше уровня жидкости вытирают фильтровальной бумагой и закрывают ее пробкой. Между пробкой и стенкой пробирки зажимают полоску бумаги, смоченную щелочным раствором соли свинца, и оставляют на 5 минут. В присутствии сероводорода или сульфид-иона бумага темнеет.

Приготовление реактивной бумаги. К 5%-ному раствору уксуснокислого свинца приливают приблизительно 10%-ный раствор едкого натра до растворения выпавшего в осадок плюмбита натрия. Этим раствором смачивают бумагу и применяют ее не высушивая.

Определение цинка. Для определения берут 1 л воды, выпаривают до 100 мл, подкисляют 2 н раствором соляной кислоты и пропускают через раствор сероводород. Осадок отфильтровывают, промывают сероводородной водой, добавляют многосернистого аммиака—полисульфида аммония $(\text{NH}_4)_2\text{S}_x^1$ и снова фильтруют. Полученный осадок растворяют в горячей (60—80°) азотной кислоте (уд. вес 1,2), выпаривают досуха и растворяют в горячей воде.

К фильтрату, полученному после отделения сульфидов, прибавляют уксуснокислый натрий для связывания соляной кислоты и делят фильтрат на две части. К одной части прибавляют 5 капель 1%-ного раствора диэтиланилина в ледяной уксусной кислоте и 5 мл 0,05%-ного раствора ферроцианида калия $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. В присутствии цинка появляется темно-бурая или темно-зеленая муть.

¹ Полисульфид аммония готовится так: в 1 л 6 н сульфида аммония всыпают 20 г порошка серы, взбалтывают, настаивают несколько часов и фильтруют.

Через другую часть фильтрата пропускают сероводород. В присутствии цинка появляется белый осадок или муть.

Определение свинца. Готовят азотнокислый раствор так же, как при определении цинка, делят его на 2 части. К одной прибавляют несколько капель 10%-ного раствора хромовокислого калия. Образование желтого осадка указывает на присутствие свинца. Другую порцию подкисляют и приливают несколько капель 10%-ного подистого калия. В присутствии свинца выпадает желтый осадок.

Определение мышьяка. Так же, как и при обнаружении цинка и свинца, готовят раствор в многосернистом аммонии, подкисляют соляной кислотой (уд. вес 1,2). При этом в присутствии мышьяка выпадает желтый осадок. Осадок отфильтровывают, растворяют в концентрированной азотной кислоте (уд. вес. 1,4) и выпаривают досуха. Полученный осадок растворяют в воде, прибавляют несколько капель растворов молибденовой кислоты и хлористого олова. В присутствии мышьяка появляется синее окрашивание.

Реактивы:

1. Раствор многосернистого аммония. 10%-ный раствор аммиака насыщают сероводородом и прибавляют порошкообразной серы, причем ее берется в 7—10 раз меньше, чем раствора аммиака.

2. Раствор молибденовой кислоты. 40 г молибденового ангидрида MoO_3 растворяют в 10%-ном растворе аммиака, подкисляют соляной кислотой и разбавляют до 1 л.

3. Раствор хлорида олова. 12,5 г хлорида олова растворяют в 5 мл соляной кислоты (уд. вес 1,19) и разбавляют водой до 1 л.

4. Диэтиланилин — 1%-ный раствор.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВОДЫ

Определение сухого остатка. Сухим называют остаток, полученный при выпаривании профильтрованной воды. По нему можно судить о примесях, растворенных в воде.

Плотным называют остаток, полученный при выпаривании нефильтрованной воды. Он показывает содержание в воде всех примесей (растворенных и нерастворенных). Фильтруют воду только в тех случаях, когда в ней обнаруживают большое количество взвешенных веществ.

Для определения сухого или плотного остатка берут мерную колбу емкостью 500 или 1000 мл, наполняют ее исследуемой водой до метки. Из колбы часть воды выливают в фарфоровую чашку, предварительно прокаленную до постоянного веса и взвешенную с точностью до 0,1 г, ставят чашку на водяную баню и выпаривают. По мере испарения в чашку доливают воду из колбы, вылив ее, колбу 2—3 раза промывают дистиллиро-

ванной водой, которую также сливают в чашку. Окончив выпаривание, чашку сушат в сушильном шкафу при температуре 105—110° на протяжении 3 часов, затем охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Найденный вес осадка выражают в миллиграммах на 1 л воды. Белый цвет остатка указывает на то, что вода довольно чистая; желтоватый или коричневый цвет осадка свидетельствует о наличии органических веществ.

После прокаливания чашку с полученным плотным остатком нагревают (не доводя до красного каления) до постоянного веса. При этом органические вещества сгорают, а некоторые карбонаты разлагаются, выделяется углекислый газ.

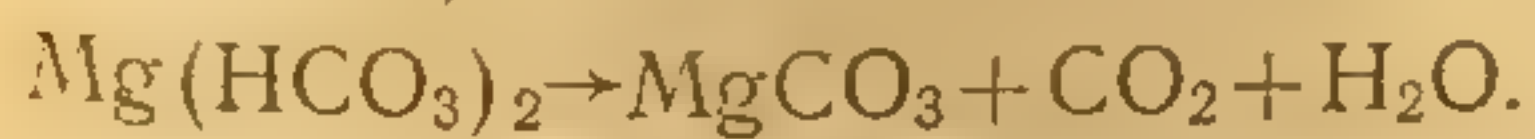
Чтобы опять превратить образовавшиеся окислы в карбонаты, прибавляют 0,1—0,2 г карбоната аммония и снова осторожно прокаливают при температуре не выше 200°. Избыток карбоната аммония при этой температуре разлагается, а остальные карбонаты остаются.

Чашку с осадком после охлаждения в эксикаторе взвешивают и, зная вес пустой чашки, находят вес прокаленного остатка, выражая его в миллиграммах на 1 л воды.

Вычитая из веса плотного остатка вес остатка после прокаливания, находят потерю при прокаливании, характеризующую содержание главным образом органических и некоторых летучих минеральных (аммонийные соли, нитраты) веществ в воде. Найденный вес также выражают в миллиграммах на 1 л воды.

Определение жесткости воды. Жесткость воды зависит от содержания растворенных в ней солей кальция и магния. Различают жесткость временную, или устранимую, и постоянную, или неустранимую.

Устранимая жесткость воды обуславливается наличием в ней бикарбонатов кальция и магния. При кипячении воды бикарбонаты разлагаются и, превращаясь в карбонаты, выпадают в осадок:



Устранимую жесткость иногда называют карбонатной, хотя между этими понятиями имеется различие. Карбонатная жесткость определяется содержанием в воде бикарбонатов кальция $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ и магния $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$. Устранимая жесткость — величина, на которую понижается жесткость воды в результате десятиминутного кипячения при 100°.

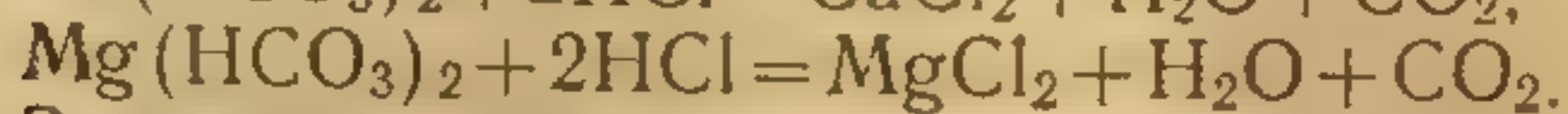
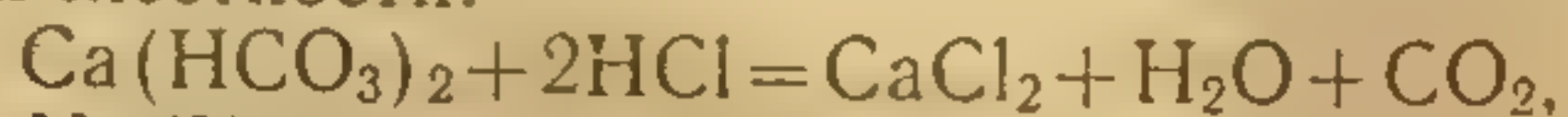
Так как образующиеся при кипячении карбонаты кальция и магния все же обладают некоторой растворимостью (карбонат магния заметной — 0,27 г/л), то они неполностью выпадают в осадок. Поэтому карбонатная жесткость воды несколько выше устранимой или временной жесткости.

Некарбонатная жесткость зависит от содержания сульфатов, хлоридов, силикатов кальция и магния. Эту жесткость называют также постоянной, или неустраняемой. Однако неустраняемая жесткость несколько выше некарбонатной, так как она включает в себя и ту часть карбонатной жесткости, которая остается в воде после десятиминутного кипячения. Сумма карбонатной и некарбонатной жесткостей, или постоянной и временной, составляет общую жесткость воды.

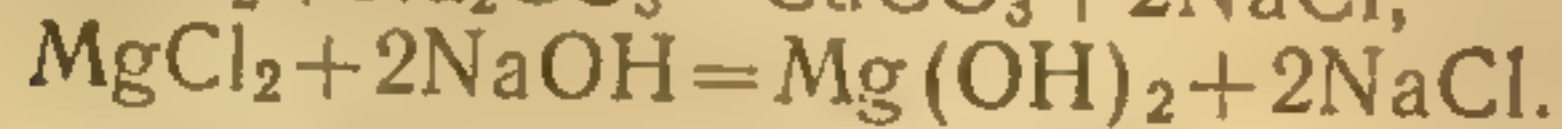
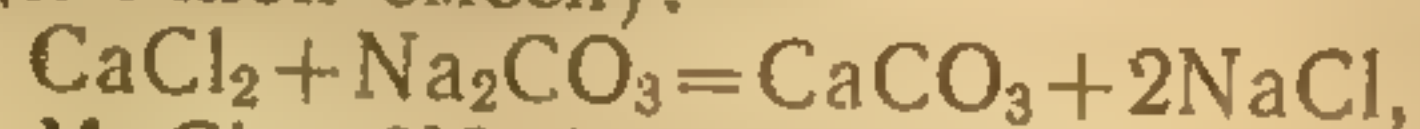
Жесткость воды выражают в градусах и в миллиграмм-эквивалентах на 1 л. Один градус жесткости соответствует 10 мг окиси кальция в 1 л воды.

Вода, имеющая до 8° жесткости, считается мягкой, 10—18° — умеренно жесткой, свыше 18° — жесткой.

Общая жесткость. Исследуемую воду титруют соляной кислотой, переводя соли карбонатной жесткости в соли некарбонатной жесткости:



Затем все соли жесткости осаждают избытком смеси равных объемов 0,1 н раствора соды и 0,1 н раствора едкого натра (щелочной смеси):



Избыток щелочной смеси оттитровывают соляной кислотой.

Для анализа в коническую колбу емкостью 200—250 мл вливают пипеткой 100 мл воды, добавляют 2—3 капли метила оранжевого и титруют 0,1 н раствором соляной кислоты до появления розовой окраски. К оттитрованному раствору прибавляют из бюретки 20—25 мл щелочной смеси, нагревают и кипятят 3 минуты. При этом все соли кальция и магния, придающие жесткость воде, выпадают в осадок. Затем содержимое колбы охлаждают и переливают в мерную колбу на 200 мл. Споласкивают коническую колбу 3 раза дистиллированной водой, сливая ее в мерную колбу, доливают водой до метки, перемешивают и фильтруют в сухой стакан. Берут пипеткой 100 мл фильтрата, переносят в коническую колбу, прибавляют 3—4 капли метила оранжевого и избыток щелочной смеси оттитровывают 0,1 н раствором соляной кислоты. Титруя щелочную смесь, определяют количество соляной кислоты, пошедшее на ее нейтрализацию.

Общую жесткость воды (мг на 1 л) определяют по формуле:

$$a = (b - 2v) \cdot 2,8,$$

где a — жесткость воды;

b — количество соляной кислоты, мг, пошедшей на титрование 20 мл щелочной смеси;

v — количество 0,1 н кислоты, израсходованной на обратное титрование.

Для выражения жесткости воды в градусах полученную величину жесткости делят на 10, принимая 10 мл окиси кальция за 1°.

Для выражения жесткости в миллиграмм-эквивалентах на 1 л полученное число жесткости делят на миллиграмм-эквивалент CaO .

Устранимая жесткость. В коническую колбу или стакан емкостью 200—250 мл отмеривают 100 мл исследуемой воды, добавляют 2—3 капли метилового оранжевого и титруют 0,1 н раствором HCl до слабозимой окраски. При этом карбонаты кальция, магния, калия и натрия переходят в хлористые соли.

Другую порцию воды (100 мл) помещают в стакан на 200 мл, отмечают уровень восковым карандашом или полоской бумаги и кипятят час. По мере выкипания жидкости добавляют дистиллированную воду до прежнего объема. Затем воду охлаждают до комнатной температуры и фильтруют от выпавшего осадка CaCO_3 и MgCO_3 . Осадок на фильтре промывают несколько раз дистиллированной водой. Фильтрат титруют 0,1 н раствором HCl до слабозимой окраски, добавив 2—3 капли метилового оранжевого. Объем HCl , пошедшей на титрование, зависит от содержания оставшихся карбонатов калия и натрия в воде.

Карбонатную жесткость, обусловленную только бикарбонатами кальция и магния, находят по формуле:

$$ж = (a - б) \cdot 2,8,$$

где $ж$ — устранимая жесткость, мг/л;

a — количество 0,1 н раствора HCl (мл), пошедшее на титрование бикарбонатов;

$б$ — количество 0,1 н раствора HCl , пошедшее на титрование бикарбонатов в кипяченой воде;

2,8 — количество CaO (мг), соответствующее 1 мл 0,1 н раствора HCl .

Для выражения жесткости в градусах полученное число делят на 10.

При вычислении жесткости в миллиграмм-эквивалентах пользуются формулой:

$$Ж = \frac{A \cdot N}{O} \cdot 1000,$$

где N — нормальность соляной кислоты;

A — объем кислоты, взятой для титрования, мл;

O — объем воды, взятой для титрования, мл.

Объем 0,1 н раствора HCl , израсходованный на титрование воды после кипячения и фильтрования, позволяет судить о суммарном содержании карбонатов натрия и калия в исследуемой воде.

Неустранимую жесткость находят по разности между общей и устранимой.

Окисляемость. Чем выше окисляемость, тем ниже качество воды. Определение окисляемости основано на способности марганцовокислого калия окислять органические вещества в присутствии серной кислоты. При этом семивалентный марганец, образующий анион MnO_4^- в кислой среде, восстанавливается находящимися в воде органическими веществами до двухвалентного.

Для определения отмеривают пипеткой 100 мл исследуемой воды, вливают ее в коническую колбу емкостью 300—500 мл, прибавляют 5 мл серной кислоты (разведенной 1:3) и нагревают до кипения. Добавляют из бюретки 10 мл 0,01 н раствора марганцовокислого калия, накрывают колбу воронкой с короткой трубкой и кипятят на медленном огне ровно 10 минут, считая с момента закипания. Если при этом раствор обесцвечивается, анализ прекращают, а исследуемую воду разбавляют в 3—4 раза дистиллированной водой и все операции повторяют.

После десятиминутного кипячения колбу снимают с электроплитки, добавляют из бюретки 10 мл 0,01 н раствора щавелевой кислоты и титруют горячий раствор 0,01 н $KMnO_4$ до появления не исчезающего слабозеленого окрашивания.

Выражая окисляемость в мг/л кислорода, расчет производят по формуле:

$$X = \frac{(A - H) K \cdot 0,08}{O} \cdot 1000,$$

где A — общее количество израсходованного марганцовокислого калия, мл;

H — количество марганцовокислого калия, израсходованного на окисление 10 мл щавелевой кислоты;

O — взятый объем воды;

K — поправочный коэффициент к 0,01 н раствору $KMnO_4$.

В присутствии значительного количества минеральных веществ, окисляющихся марганцовокислым калием (солей закиси железа, солей азотной кислоты, сероводорода и др.), в отдельной порции определяют окисляемость прямым титрованием на холоде.

Количество марганцовокислого калия, израсходованного при таком титровании, вычитают из общего количества марганцовокислого калия, которое пошло на титрование при высокой температуре.

Для ориентировочного определения качества воды в производстве пользуются следующим способом.

В пробирку наливают воду, прибавляют 3 капли 0,03 %-ного раствора $KMnO_4$ и оставляют в покое на 20 минут. Если сохраняется малиновая окраска, вода содержит мало органических веществ и считается удовлетворительной; если окраска становится красноватой, вода подозрительна на загрязненность орга-

ническими веществами; при желто-бурой окраске ее считают недоброкачественной.

Реактивы. 1. Марганцовокислый калий, 0,01 н раствор. 0,32 г KMnO_4 помещают в литровую колбу, растворяют в дистиллированной воде до метки. Титр полученного раствора устанавливают непосредственно при определении окисляемости.

2. Щавелевая кислота, 0,01 н раствор. Берут 0,6302 г дважды перекристаллизованной щавелевой кислоты $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, высушенной в эксикаторе, содержащем смесь твердого бромистого натрия и его насыщенного раствора (относительная влажность 60°), растворяют в мерной колбе (емкостью 1 л) дистиллированной водой, прибавляют 25 мл обработанного марганцовокислым калием раствора серной кислоты и воду до метки. Вместо щавелевой кислоты можно взять 0,6705 г перекристаллизованного щавелевокислого натрия $\text{Na}_2\text{C}_4\text{O}_4$, высушенного при 100° до постоянного веса.

3. Раствор серной кислоты. В три объема дистиллированной воды добавляют один объем серной кислоты (уд. вес 1,84), прибавляют 0,01 н раствор марганцовокислого калия до слабо-розовой окраски и кипятят в течение 30 минут, добавляя в случае исчезновения окраски раствор KMnO_4 .

Для установки титра марганцовокислого калия отмеривают пипеткой 100 мл дистиллированной воды, помещают в коническую колбу емкостью 300 мл, прибавляют 5 мл приготовленного раствора серной кислоты и нагревают до кипения. В кипящую жидкость из бюретки вливают 10 мл 0,01 н раствора марганцовокислого калия, закрывают колбу, нагревают и кипятят ровно 10 минут. Затем колбу снимают с огня и прибавляют из бюретки 10 мл 0,01 н раствора щавелевой кислоты. За счет щавелевой кислоты ионы семивалентного марганца и жидкость обесцвечиваются. Содержимое колбы дотитровывают раствором марганцовокислого калия до появления не исчезающего розового окрашивания.

Определение pH. В пробирку отмеривают 10 мл исследуемой воды температурой 18° , прибавляют 1 мл 0,3%-ного раствора индикатора мета-нитрофенола, встряхивают и сравнивают окраску раствора с окраской стандартных растворов приготовленной цветной шкалы.

Для приготовления шкалы берут пробирки, наливают в них по 9 мл 0,01 н раствора NaOH и разбавленного в 10 раз раствора индикатора мета-нитрофенола, внося его во все возрастающих количествах 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 и т. д. Объем жидкости во всех пробирках доводят до 11 мл.

Величину активной кислотности находят по формуле:

$$\text{pH} = K + T + B,$$

где K — константа диссоциации мета-нитрофенола при 18° , равная 8,33,

T — температурная поправка, которая вводится, если температура воды не равна 18° ,

B — функция цветности, величину которой определяют по таблице.

Для нахождения B надо знать Φ — количество раствора индикатора (неразбавленного), добавленного в пробирку шкалы, окраска которой совпадает с окраской исследуемой воды в пробирке.

Пример. К 10 мл воды при температуре 12° добавляется 1 мл 0,3%-ного мета-нитрофенола; окраска ее оказалась такой же, как в пробирке шкалы, куда прибавлено 1,5 мл разбавленного в 10 раз раствора индикатора, что соответствует 0,15 мл неразбавленного.

Φ равно 0,15. По таблице (стр. 261) находим B , что равно 0,75. Поправка на температуру $+0,04^\circ$, откуда $pH = 8,33 + 0,04 + (-0,75) = 7,62$.

Для определения величины pH можно также пользоваться цветной шкалой Алямовского.

Более точным методом определения pH воды является электрометрический.

Общая щелочность. Под общей щелочностью воды понимают сумму содержащихся в воде бикарбонатов, карбонатов, гидратов и солей других слабых кислот, вступающих в реакцию с соляной кислотой с образованием хлористых солей щелочных и щелочноземельных металлов.

Щелочность воды выражают в градусах или миллиграмм-эквивалентах в литре. Один градус щелочности соответствует 10 мг/л окиси кальция. Определение щелочности основано на последовательности титрования с двумя индикаторами, позволяющими рассчитывать содержание бикарбонатов и карбонатов в воде.

Отмеривают пипеткой 100 мл исследуемой воды, помещают в коническую колбу емкостью 250 мл, добавляют 3 капли раствора фенолфталеина. Если появится розовая окраска, воду титруют 0,1 н раствором соляной кислоты.

Затем к обесцвеченному раствору добавляют 3 капли метилового оранжевого и продолжают титрование до появления красного цвета.

Если на титрование расходуется менее 0,4 мл 0,1 н раствора соляной кислоты, то пользуются более разбавленным — 0,04 н.

Общую щелочность (мг/экв на 1 л) при титровании 0,1 н раствором HCl вычисляют по формуле:

$$O_{щ} = K \cdot A,$$

где K — поправочный коэффициент 0,1 н раствора соляной кислоты;

A — общее количество 0,1 н раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование с обоими индикаторами.

Щелочность в градусах

0	0,00	0,00	-0,12
5	-0,07	0,00	-0,07
10	-0,15	0,00	-0,15
15	-0,22	0,00	-0,22
20	-0,30	0,00	-0,30
25	-0,37	0,00	-0,37
30	-0,45	0,00	-0,45
35	-0,52	0,00	-0,52
40	-0,60	0,00	-0,60

Если $\Phi = 0$, то щелочность определяется бикарбонатами, получим карбонаты. При наличии карбонатов и бикарбонатов даст правильные результаты удвоенной щелочности. Определение щелочности бикарбонатов и карбонатов. Для анализа отмеривают 100 мл исследуемой воды, добавляют 3 капли фенолфталеина, титруют 0,1 н раствором HCl до появления розового цвета. Затем добавляют 3 капли метилового оранжевого и продолжают титрование до появления красного цвета. Если на титрование расходуется менее 0,4 мл 0,1 н раствора HCl , то пользуются более разбавленным — 0,04 н.

При выражении щелочности в градусах формула приобретает несколько иной вид:

$$O_{щ} = K \cdot A \cdot 2,8.$$

Поправка на температуру растворов		Значение при различной степени цветности							
температура	поправка	Ф	В	Ф	В	Ф	В	Ф	В
0	+0,10	0,01	—2,00	0,11	—0,91	0,21	—0,57	0,31	—0,35
5	+0,07	0,02	—1,70	0,12	—0,87	0,22	—0,55	0,32	—0,33
10	+0,05	0,03	—1,51	0,13	—0,83	0,23	—0,52	0,33	—0,31
15	+0,02	0,04	—1,38	0,14	—0,79	0,24	—0,50	0,34	—0,29
18	0,00	0,05	—1,28	0,15	—0,75	0,25	—0,48	0,35	—0,27
20	—0,01	0,06	—1,20	0,16	—0,72	0,26	—0,45	0,40	—0,18
25	—0,04	0,07	—1,12	0,17	—0,69	0,27	—0,43	0,50	—0,00
30	—0,07	0,08	—1,06	0,18	—0,66	0,28	—0,41	—	—
35	—0,10	0,09	—1,00	0,19	—0,63	0,29	—0,39	—	—
40	—0,13	0,10	—0,95	0,20	—0,60	0,30	—0,37	—	—

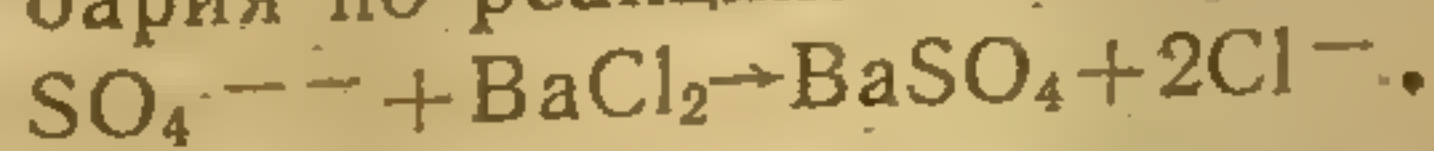
Щелочность по фенолфталеину вычисляют по этой же формуле:

$$\Phi = K \cdot A.$$

Если $\Phi = 0$, то общая щелочность воды обусловлена только присутствием бикарбонатов. Удвоив щелочность по фенолфталеину, получим карбонатную жесткость.

При наличии карбонатной щелочности описанный метод дает правильные результаты только при рН воды меньше 0,5 и при удвоенной щелочности по фенолфталеину, меньшей общей щелочности.

Определение сульфатов. Сульфат-ион осаждают хлористым барием в кислом растворе в виде малорастворенного сернокислого бария по реакции:



Для анализа отмеривают в химический стакан 100—150 мл исследуемой воды, подкисляют ее 3 мл соляной кислоты и выпаривают, пока не останется 50 мл. Затем воду охлаждают и дают отстояться в течение 3 часов, после чего отфильтровывают через

плотный бумажный фильтр от выпавшего осадка гуминов и кремневой кислоты. Осадок на фильтре промывают дистиллированной водой, слабо подкисленной соляной кислотой, присоединяя промывные воды к фильтрату, который снова выпаривают до 50 мл.

В горячую воду приливают 5%-ный раствор хлористого бария, нагретый до 80°, хорошо перемешивают, дают отстояться и проверяют полноту осаждения, добавляя 2—3 капли BaCl_2 . Если появляется муть, добавляют еще хлористого бария и после отстаивания снова проверяют полноту осаждения.

Добившись полного осаждения, стакан помещают на 3 часа на кипящую водяную баню, затем покрывают часовым стеклом и, включив баню, оставляют на ночь для полноты осаждения сульфатов и созревания осадка.

На следующий день жидкость отфильтровывают через беззольный фильтр (синяя лента), смоченный предварительно горячей водой, и промывают осадок на фильтре горячей водой до исчезновения в промывной воде ионов хлора (по AgNO_3).

Затем фильтр вместе с воронкой подсушивают, вынимают и переносят в предварительно прокаленный до постоянного веса фарфоровый тигель и сжигают в нем. Содержимое тигля смачивают 1—2 каплями концентрированной серной кислоты, осторожно выпаривают и прокаливают до полного озоления. Прокаленный тигель с осадком охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Содержание сульфат-иона (мг/л) вычисляют по формуле:

$$\text{SO}_4^{2-} = \frac{0,4114 \cdot A}{O} \cdot 1000,$$

где A — вес осадка сернокислого бария, мг ;

O — объем исследуемой воды, взятой для определения, мл ;

0,4114 — коэффициент для перерасчета веса BaSO_4 на сульфат-ион.

Определение хлоридов

В коническую колбу емкостью 250—300 мл отмеривают пипеткой 100 мл исследуемой воды, прибавляют 1 мл 5%-ного раствора хромовокислого калия и титруют раствором азотнокислого серебра до изменения желтой окраски в оранжево-желтую.

Если титрованный раствор азотнокислого серебра приготовлен так, что 1 мл его соответствует 1 мг хлора, то содержание хлора (в мг/л) определяют по формуле:

$$\text{Cl}^- = \frac{A \cdot K}{O} \cdot 1000,$$

где A — количество раствора азотнокислого серебра, израсходованное на титрование, мл ;

O — объем исследуемой воды;

K — коэффициент поправки к титру азотнокислого серебра. Присутствие в воде сероводорода мешает определять хлор этим методом и искажает полученные результаты.

Если реакция воды кислая или щелочная, воду предварительно нейтрализуют 0,1 н раствором Na_2CO_3 с индикатором метиловым оранжевым или 0,1 н раствором K_2CrO_4 с индикатором фенолфталеином.

Количество кислоты или щелочи, необходимое для нейтрализации, можно определить в отдельной пробе воды и перед определением хлоридов в отмеренную воду добавить столько соды или кислоты, сколько пошло на нейтрализацию воды.

Для получения более точных результатов рекомендуют к количеству израсходованного раствора AgNO_3 на 100 мл воды вносить поправки при условии, если титрование производят с 1 мл 10%-ного раствора K_2CrO_4 .

Если вода имеет окраску, ее обесцвечивают кипячением с перекисью водорода в течение 10 минут (20 мл H_2O_2 на 1 л воды), затем фильтруют и определяют хлориды в осветленной пробе.

Реактивы. 1. Титрованный раствор поваренной соли. 1,05 г химически чистой NaCl растворяют в литровой мерной колбе и добавляют дистиллированной воды до метки. Один миллилитр этого раствора содержит 1 мг хлора.

2. Титрованный раствор азотнокислого серебра. 4,84 г AgNO_3 растворяют в литровой мерной колбе и доливают до 1 л. Один миллилитр этого раствора может осадить 1 мг хлора.

3. Раствор хромовокислого калия. 50 г K_2CrO_4 растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, прибавляют раствор азотнокислого серебра до образования небольшого красного осадка и оставляют на двое суток. Затем раствор фильтруют в мерную колбу емкостью 1 л и добавляют до метки дистиллированной воды.

Установление титра AgNO_3 . 10 мл приготовленного раствора поваренной соли помещают в коническую колбу емкостью 300 мл, прибавляют 100 мл дистиллированной воды, 1 мл 5%-ного раствора хромовокислого калия и титруют раствором азотнокислого серебра. Титрование считают предварительно законченным после того, как лимонно-желтая окраска перейдет в оранжево-желтую, не исчезающую в течение 15—20 сек. К оттитрованному раствору прибавляют 1—2 капли титрованного раствора поваренной соли до исчезновения красноватого оттенка и титруют новую порцию раствора хлористого натрия, используя первый оттитрованный раствор как цветовой стандарт.

Титрование считают законченным, как только появится не исчезающая при встряхивании бледно-оранжевая или желтая окраска титруемого раствора-стандарта.

Коэффициент поправки находят по формуле: $K=10a$, где

a — количество азотнокислого серебра (мл), израсходованного на титрование 10 мл раствора хлористого натрия.

Определение кислорода. Для отбора проб из водохранилищ собирают прибор, состоящий из сосуда для пробы и литровой бутылки, которые закрывают пробками с двумя отверстиями и через них пропускают стеклянные трубки. Одна из трубок доходит до дна сосуда, другая оканчивается у пробки. Сосуд соединяют с бутылкой длинной резиновой трубкой. При отборе пробы его ставят в воду, а из бутылки через короткую трубку с помощью резиновой груши отсасывают воздух до тех пор, пока вода не начнет переливаться из наполненного сосуда в бутылку. Тогда его извлекают из воды, вынимают пробку с трубками и закрывают притертой пробкой.

Содержание кислорода определяют следующим образом: если в воде присутствуют нитраты и органические вещества, их предварительно окисляют, добавив 0,7 мл концентрированной серной кислоты и 2—5 мл 0,2 н раствора марганцовокислого калия. Для этого, открыв в сосуде пробку, погружают в воду конец пипетки и прибавляют жидкость до тех пор, пока уровень воды в сосуде не дойдет до краев горлышка. Затем выпускают из пипетки нужное количество жидкости, при этом из склянки выльется такой же объем воды. Этот объем вычитают из объема взятой пробы. Сосуд закрывают пробкой, перемешивают воду и оставляют на 20 мин. Если проба обесцвечивается, то надо добавить столько марганцовокислого калия, чтобы после перемешивания и отстоя вода оставалась окрашенной. Окраску уничтожают, добавляя из пипетки таким же способом, как и марганцовокислый калий, 1—2 мл 2%-ного раствора оксалата натрия.

После окисления нитратов и органических веществ к взятой пробе прибавляют 1 мл раствора соли закиси марганца и 3 мл щелочного раствора йодистого калия. Добавляют растворы способом, описанным выше, учитывая количество вылившейся из сосуда воды.

Сосуд закрывают пробкой, содержимое его хорошо перемешивают и, осадив на дно образовавшийся осадок, приливают 3 мл концентрированной соляной кислоты и перемешивают до растворения осадка. При этом жидкость от выделившегося йода окрашивается в желтый цвет.

Из пробы отбирают в коническую колбу 200 мл раствора и оттитровывают йод 0,01 н раствором гипосульфита натрия до слабожелтого окрашивания, затем прибавляют 1 мл 1%-ного раствора крахмала и дотитровывают до исчезновения синей окраски. Содержание кислорода (г/л) определяют по формуле:

$$O_2 = \frac{8 \cdot 0,01 \cdot K \cdot A \cdot O}{H(O - B)} \cdot 1000,$$

где O — объем склянки, мл;

V — объем воды, вытесненной из склянки при добавлении в нее реактивов, *мл*;

H — объем воды, взятой на титрование, *мл*;

A — объем 0,01 н раствора гипосульфита, израсходованного на титрование, *мл*;

K — поправочный коэффициент к 0,01 н раствору гипосульфита.

Определение свободной углекислоты. *Приготовление эталонного раствора.* В мерную колбу на 100 *мл* помещают 2 *мл* 1%-ного раствора фенолфталеина и доливают дистиллированной водой до метки. В такую же склянку наливают 200 *мл* дистиллированной воды, прибавляют 0,5 *мл* 10%-ного раствора едкого натра, перемешивают и прибавляют 0,2 *мл* раствора фенолфталеина. Приготовленный эталонный раствор окрашивается в розовый цвет ($pH=8,4$).

Для определения двуокиси углерода отбирают отдельную пробу воды, берут из нее 200 *мл*, прибавляют 0,2 *мл* 1%-ного раствора фенолфталеина, перемешивают и сравнивают окраску раствора с окраской эталона. Если проба воды окрасилась сильнее эталонного раствора, свободная углекислота отсутствует, если же она от добавления фенолфталеина не окрасилась или окрасилась слабее эталонного раствора, то ее титруют 0,1 н раствором едкого натра до получения одинаковой с эталонным раствором окраски.

Расчет ведут по формуле:

$$CO_2 = \frac{44 \cdot K \cdot A}{O} \cdot 1000 \text{ (мг/л)},$$

где K — поправка к титру для 0,1 н $NaOH$;

A — объем щелочи, пошедшей на титрование исследуемой воды, *мл*;

O — объем исследуемой воды.

Определение сероводорода. Для определения свободного сероводорода в сосуд емкостью 250 *мл* наливают 1—2 *мл* 50%-ного раствора едкого натра и добавляют воду до пробки, чтобы не оставалось пузырьков воздуха. Содержимое хорошо перемешивают и дают выпавшему осадку отстояться, затем делают пробу на полноту осаждения и, если она достигнута, жидкость фильтруют, а осадок тщательно промывают горячей водой. Фильтр с осадком помещают в стакан, добавляют 25—20 *мл* 0,01 н раствора йода и подкисляют 5 *мл* соляной кислоты (1:9). Фильтр растирают стеклянной палочкой и оттитровывают избыток йода 0,01 н раствором гипосульфита натрия до получения светло-желтой окраски. Затем прибавляют 1 *мл* 1%-ного раствора крахмала и титруют вновь до исчезновения синего окрашивания.

Результат вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(A \cdot K_1 - B \cdot K_2) \cdot 0,85}{O} \cdot 1000,$$

где X — содержание сероводорода, мг/л;

A — количество прибавленного раствора йода, мл;

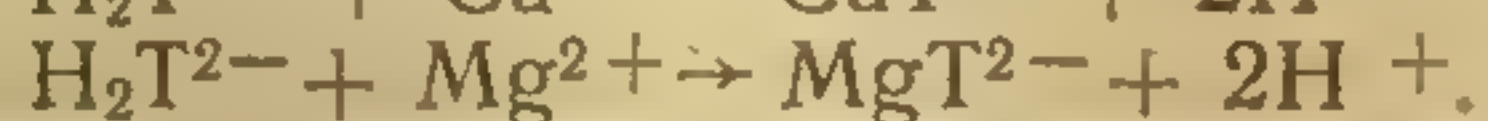
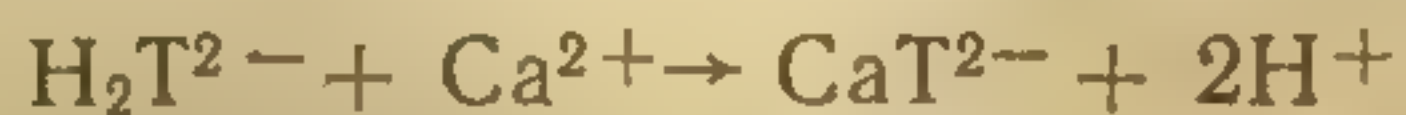
K_1 — поправочный коэффициент для приведения раствора йода к точно 0,01 н;

B — количество раствора тиосульфита натрия, израсходованное на обратное титрование, мл;

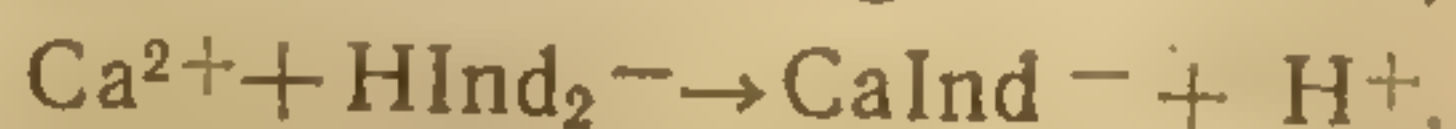
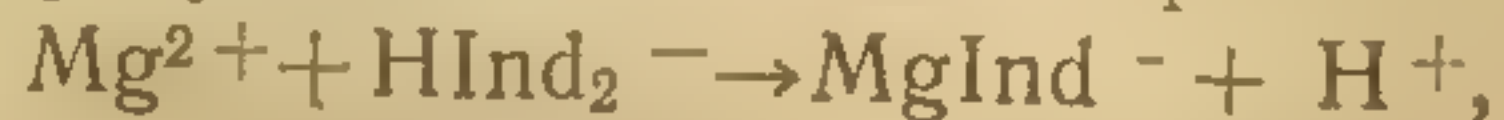
K_2 — поправочный коэффициент для приведения раствора тиосульфита натрия к точно 0,01 н;

O — объем взятой для исследования воды.

Трилометрическое определение суммы кальция и магния в природной воде. Определение суммарного содержания кальция и магния основано на применении трилона Б-кислой натриевой соли этилендиаминотетрауксусной кислоты (или сокращенно $\text{Na}_2\text{H}_2\text{T}$). В щелочной среде трилон Б образует с ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} комплексы по уравнениям:



При добавлении к раствору, содержащему ионы кальция и магния, индикатора кислотного хром сине-черного (или хромогена черного), последние связываются в окрашенные комплексы. Ионы магния и кальция реагируют с индикатором по уравнениям, образуя комплексы винно-красного цвета:



голубой

винно-красный

При титровании полученного раствора трилоном Б ионы кальция и магния извлекаются и связываются в более прочные комплексы с трилоном Б, в связи с чем по окончании титрования винно-красный цвет раствора переходит в голубой цвет индикатора. Очень резкий переход окраски дают ионы магния, но ионы кальция четкого изменения окраски не дают, поэтому кальций можно определить только в присутствии магния, т. е. только сумму обоих ионов.

Метод применим при минимальной суммарной концентрации кальция и магния в титруемой пробе раствора, до 0,5 мг-экв/л. Относительная ошибка находится в пределах 1—3%. Определять кальций и магний мешают железо, алюминий, марганец, медь и высокое содержание карбонатных и бикарбонатных ионов. Чтобы устранить влияние железа, рекомендуется разбавить раствор или предварительно отделить железо. Влияние небольших концентраций марганца можно устранить, добавляя к титруемому раствору гидроксилламин. Что касается высокого содержания карбонатных и бикарбонатных ионов, то их влияние устраняется добавлением титрованного раствора соляной кислоты для нейтрализации щелочности и последующим кипячением раствора (для удаления CO_2) в течение 5 мин.

Ход анализа. 1. В коническую колбу на 250 мл берут необходимый объем анализируемой воды.

Рекомендуемые объемы проб для анализа и концентрация раствора трилона Б в зависимости от содержания кальция и магния

Содержание Ca^{2+} и Mg^{2+} (мг-экв/л, жесткость воды)	Объем пробы, мл	Концентрация раствора трилона Б, нормальность
0,5— 5,0	50	0,01
5,0—10,0	25	0,01
10,0—20,0	10	0,01
20,0—50,0	10	0,05

2. Затем добавляют, если нужно, дистиллированной воды до общего объема 50 мл, 5 мл буферного раствора и 10 капель индикатора хром темно-синего (или хромогена черного); все это перемешивают.

3. Полученный раствор титруют, энергично перемешивая раствором трилона Б до перехода окраски от винно-красной через лиловую и фиолетово-синюю к чистой голубой по окончании титрования. Чтобы не перетитровать, окраску раствора сравнивают с заведомо перетитрованной пробой воды.

4. Содержание Ca^{2+} и Mg^{2+} рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{Ca} + \text{Mg}} = \frac{a \cdot N \cdot K \cdot 1000}{V},$$

где $C_{\text{Ca} + \text{Mg}}$ — содержание Ca^{2+} и Mg^{2+} в мг-экв/л, т. е. жесткость исследуемой воды;

a — количество раствора трилона Б, израсходованного на титрование, мл;

N — нормальность раствора трилона Б;

K — поправочный коэффициент для раствора трилона Б;

V — объем взятой для анализа воды, мл.

А. Установление титра 0,01 н раствора трилона Б. 1. В коническую колбу на 250 мл пипеткой берут 25 мл 0,01 н раствора $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, приготовленного из фиксала, добавляют дистиллированной воды до 50 мл.

2. Прибавляют 5 мл буферного раствора, 10 капель индикатора хром темно-синего (или хромогена черного) и хорошо перемешивают.

3. Раствор титруют, энергично перемешивая, раствором трилона Б до получения голубой окраски (сравнивают с окраской контрольного раствора).

Б. Установление титра 0,05 н раствора трилона Б. 1. Пипеткой берут 50 мл 0,01 н раствора $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (приготовленного из фиксала) в коническую колбу объемом 250 мл.

2. Прибавляют 5 мл буферного раствора, 10 капель индикатора

тора хром темно-синего (или хромогена черного) и хорошо перемешивают.

3. Раствор титруют, при энергичном перемешивании, раствором трилона Б до получения голубой окраски (сравнивают с окраской контрольного раствора).

Вычисление поправки к титру K для 0,01 н в растворе трилона Б. Пример. Для установки титра было взято 25 мл 0,01 н раствора $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, на титрование которого было израсходовано 24 мл приближенного 0,01 н раствора трилона Б. Поправку к титру K вычисляем по формуле:

$$K_{0,01 \text{ н трилона Б}} = \frac{V}{V_x},$$

где V — объем точного 0,01 н раствора $MgSO_4 \cdot 7H_2O$;

V — объем раствора трилона Б (приблизительно 0,01 н).

Для указанного примера имеем:

$$K_{0,01 \text{ н трилона Б}} = \frac{25}{24} = 1,042.$$

Вычисление поправки к титру K для 0,05 н раствора трилона Б. Пример. На титрование 50 мл 0,01 н раствора $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ было израсходовано 12 мл 0,05 н раствора трилона Б.

$$K = \frac{V}{5 \cdot V_x} = \frac{50}{5 \cdot 12} = \frac{50}{60} = \frac{5}{6} = 0,833.$$

Определение кальция трилонометрическим методом так же, как и определение суммы кальция и магния, основано на применении трилона Б, но индикатором в этом случае служит специфичный для ионов Ca^{2+} мурексид. С ионами кальция в щелочной среде он образует комплекс, окрашенный в красный цвет. При титровании полученного раствора трилоном Б в точке эквивалентности окраска становится лиловой (фиолетовой).

Ход анализа. 1. Пипеткой берут необходимый объем анализируемой воды и помещают в коническую колбу на 200—250 мл.

Рекомендуемый объем пробы для анализа и концентрация раствора трилона Б в зависимости от концентрации Ca^{2+} в воде

Концентрация ионов Ca^{2+} , мг-экв/л	Объем пробы, мл	Концентрация раствора трилона Б, нормаль- ность
0,5— 2,5	100	0,01
2,5— 5,0	50	0,01
5,0—10,0	25	0,01
10,0—20,0	25	0,02
20,0—40,0	25	0,05

2. Добавляют, если нужно, дистиллированной воды до 100 мл, 2 мл 2 н раствора NaOH и 10—15 мг смеси индикатора мурексида (лопаточкой, сделанной из спички).

3. Раствор титруют, интенсивно перемешивая, раствором трилона Б до перехода красной окраски в лиловую (красно-фиолетовую), сравнивая ее с окраской контрольного раствора, которым является заведомо перетитрованная проба воды.

4. Содержание Ca^{2+} , мг-экв/л, рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{Ca}^{2+}} = \frac{a \cdot N \cdot K \cdot 100}{V},$$

где a — количество раствора трилона Б, израсходованного на титрование, мл;

N — нормальность раствора трилона Б;

K — поправка к титру;

V — объем пробы, взятой для анализа.

Зная сумму кальция и магния и содержание кальция, можно по разности найти концентрацию магния в исследуемой воде:

$$C_{\text{Ca}^{2+}} + \text{Mg}^{2+} - C_{\text{Ca}^{2+}} = \text{CMg}^{2+}$$

Для пересчета концентраций на мг/л необходимо концентрацию, выраженную в мг-эквивалентах, умножить на мг-эквивалент.

Пример. Концентрация Ca^{2+} и Mg^{2+} равна 5,4 мг-экв/л; $C_{\text{Ca}^{2+}} = 4,0$ мг-экв/л; $C_{\text{Mg}} = 1,4$ мг-экв/л.

Для перехода к концентрациям, выраженным в мг/л, умножаем полученные данные на мг-эквиваленты соответствующих ионов:

$$C_{\text{Ca}^{2+}} = 4 \times 20 = 80 \text{ мг/л}; C_{\text{Mg}^{2+}} = 1,4 \times 12 = 16,8 \text{ мг/л}.$$

МЕТОДЫ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ¹

План бактериологического анализа воды

Первый день

1. Запись в книгу экспертиз поступившей пробы воды.
2. Подготовить:
 - а) МПА (расплавить и охладить до 45°);
 - б) глюкозо-пептонную среду: концентрированную (в колбочках по 10 мл, в пробирках — по 1 мл среды) и разведенную (в пробирках по 10 мл среды);
 - в) пробирки с 9 мл стерильной водопроводной воды;
 - г) стерильные пипетки (1 и 10 мл), чашки Петри, мензурки на 100 мл.
3. Взболтать пробу, не замачивая пробки.
4. Решить, в каких объемах воды определять микробное число и титр группы кишечной палочки (см. § 3).

¹ Методы заимствованы из брошюры Н. А. Голубева по этому вопросу, изданной Ленинградским институтом усовершенствования врачей, Л., 1957.

5. Приготовить разведения исследуемой воды, если посе́вы делаются в объемах не менее 0,1 мл (см. § 4).

6. Сделать соответствующие надписи на чашках Петри, пробирках и колбах.

7. Произвести посе́вы:

а) на МПА (для определения микробного числа) не менее двух объемов исследуемой воды в зависимости от степени загрязненности 1 и 0,1 мл, или 0,1 мл и 0,01 мл, или 0,01 и 0,001 и т. д. (см. § 6, 7, 8);

б) на глюкозо-пептонную среду (для определения титра группы кишечной палочки) соответствующих объемов испытуемой воды в зависимости от предполагаемого загрязнения (см. § 12, 13, 14).

Поставить в термостат чашки Петри с МПА (после посе́ва на них исследуемой воды) при 37 и 20° (см. § 9), а посе́вы на глюкозо-пептонную среду — при 42—43° (см. § 15).

Второй день

1. Произвести счет колоний, выросших на МПА при 37°, записать в журнал (см. § 10, 11).

2. Учесть результаты посе́вов на глюкозо-пептонной среде, и, независимо от признаков роста, из всех бродильных сосудов произвести пересев на розоловый дифференциальный агар (РДА).

Пробирки с посе́вами на розоловый дифференциальный агар поставить в термостат при 37° на 23 часа. Посе́вы же на глюкозо-пептонной среде поставить в термостат при 42—43° (см. § 16, 17, 18). Данные внести в журнал.

Третий день

1. Произвести счет колоний, выросших на МПА при 20°. Данные записать в журнал (см. § 10, 11).

2. Изучить результаты посе́вов на розоловом дифференциальном агаре и глюкозо-пептонной среде (см. § 19, 20). Колический титр выражается при помощи таблиц 1—5. Сообщить о результатах исследования воды.

Определение микробного числа. Микробное число — количество колоний, выросших в чашках Петри на МПА при инкубации из 1 мл исследуемой воды при 37 и 20° в течение соответственно 24 и 48 часов.

Микробное число для поверхностных водоемов определяется после выращивания посе́вов при 37 и 20°, для водопроводов и подземных источников — при 37°.

Подготовка к посе́ву

§ 1. МПА, приготовленный в пробирках по 15 мл, расплавляют в кипящей воде и затем охлаждают до 45°.

§ 2. Пробу испытуемой воды перед посе́вом тщательно перемешивают, следя за тем, чтобы не смачивалась пробка.

§ 3. Для засева в зависимости от предполагаемого загрязнения берется различное количество исследуемой воды (но не менее двух объемов), а именно: 1 и 0,1 мл, 0,1 и 0,01 мл, или 0,01 и 0,001 мл и т. д.

1 и 0,1 мл исследуемой воды вносятся в чашку Петри непосредственно градуированными пипетками. Для засева же менее 0,1 мл приготовляются разведения исследуемой воды в стерилизованной (в автоклаве) питьевой воде.

Рекомендуется применять такие разведения, при посеве которых на чашках вырастает не менее 300 колоний.

§ 4. Разведения приготавливаются следующим образом: после фламбирования горлышка склянки (батомстра) стерильной градуированной пипеткой отбирают 1 мл воды, вносят в пробирку с 9 мл стерильной воды и тщательно (набирая и выдувая из пипетки) перемешивают. На пробирке делается надпись 0,1, что означает: 1 мл воды этой пробирки содержит 0,1 мл исследуемой воды. Другой стерильной пипеткой берут из первой пробирки (с надписью 0,1) 1 мл и приливают во вторую с 9 мл стерильной воды. Тщательно перемешивают и на пробирке делают надпись 0,01, потому что 1 мл жидкости этой пробирки будет содержать 0,01 мл испытуемой воды, и т. д., до получения необходимого разведения.

Для получения последующего разведения каждый раз берутся стерильные пипетки.

При приготовлении разведений учитывают, в каких малых объемах испытываемой воды будет определяться коли-титр, и одновременно готовят их.

§ 5. На крышках чашек Петри делаются записи о количестве вносимой в чашку исследуемой воды и дата посева.

Посев и выращивание

§ 6. Из каждой пробы воды подземных водонсточников и водопроводов берут для посева не менее двух разведений (см. § 3), чаще всего 1 и 0,1 мл, и каждое из них вносят в чашку Петри, на крышке которой предварительно сделана надпись (см. § 5).

§ 7. Из каждой пробы воды открытых водоемов берут для посева не менее двух разведений (см. § 3), чаще всего 0,1 и 0,01 мл и даже менее, в зависимости от предполагаемого загрязнения, и каждое из них вносят в чашку Петри, на крышке которой сделана предварительная надпись (см. § 5).

Такие же посевы делаются в чашки Петри для выращивания при 20°.

§ 8. После внесения исследуемой воды в чашки Петри вливают расплавленный и охлажденный до 45° МПА, их быстро смешивают вращательными движениями, стараясь не смачивать края и крышки чашки. Охлаждают смесь на горизонтальной поверхности.

Края пробирок с МПА перед выливанием агара в чашки фламбируют. При работе одной пипеткой посе́вы воды в чашки начинают с больших разведений и переходят на меньшие.

§ 9. Чашки с посевами ставятся в термостат при 37° на 24 часа, при 20° — на 48.

Учет результатов посева (счет колоний)

§ 10. Колонии считают с помощью лупы одним из описываемых способов.

А. Если колоний немного (не более 350), то в чашке их считают все. Для пересчета на 1 мл исследуемой воды количество колоний умножают на степень разведения. Результаты суммируют, и сумму делят на число чашек, в которых подсчитывались колонии.

Пример. В одной чашке засеяно 0,1, во второй 0,01 мл исследуемой воды. В первой чашке подсчитано 345 колоний, в пересчете на 1 мл — 3450 (345×10), во второй — 38 колоний, в пересчете на 1 мл — 3800. Сумма колоний на двух чашках — 7250 ($3450 + 3800$). Количество колоний в 1 мл исследуемой воды — 3625 ($7250 : 2$).

Б. Если колоний на чашке более 350, то учитывают их при помощи счетной пластинки. В этом случае должны быть сосчитаны колонии не менее чем на $\frac{1}{4}$ чашки. Полученные по квадратам числа колоний складываются, сумма делится на количество подсчитанных квадратов, т. е. вычисляется среднее число колоний на 1 см². Общее число колоний в 1 мл определяется по формуле $\pi r^2 a R$,

где $\pi = 3,14$,

r — радиус дна чашки,

a — среднее число колоний на 1 см²,

R — степень разведения.

Пример. Засеяно 0,01 мл исследуемой воды. Подсчитано в 25 квадратах 325 колоний, т. е. в среднем на 1 см² приходится 13 колоний ($325 : 25$). Диаметр чашки — 9,6 см, отсюда $r = 4,8$ см. Следовательно, общее количество колоний в 1 мл исследуемой воды $3,14 \times 4,8^2 \times 13 \times 100 = 93849$ колоний.

§ 11. Количество колоний рекомендуется выражать следующим образом:

При количестве колоний в 1 мл				Результат анализа записывается
от	1	до	100	как было подсчитано
"	101	"	1000	с округлением до ближайших 10
"	1001	"	10000	с округлением до ближайших 100
"	10001	"	100000	с округлением до ближайших 1000
"	100001	"	1000000	с округлением до ближайших 10000

Определение количества бактерий группы кишечной палочки. Группа кишечной палочки подразделяется на следующие подгруппы:

B. coli commune, *B. coli citrovorum*, *B. coli aerogenes*, *B. paracoli*. К ним относятся:

- а) грам-отрицательные, короткие неспороносные палочки;
- б) аэробы или факультативные анаэробы;
- в) сбраживающие глюкозу с образованием кислоты и газа в течение 24 час. при 43 — 45°;

г) растущие на фуксин-сульфитном агаре с образованием красных с металлическим блеском колоний или темно-красных и розовых с темным центром и прозрачных неокрашенных колоний.

Наличие в исследуемой воде кишечной палочки и ее разнотидностей, являющееся показателем фекального загрязнения воды, определяется методом бродильных проб, при этом результаты выражаются в виде титра группы кишечной палочки, а также методом мембранных фильтров с выражением результатов анализа в виде коли-индекса.

1. Двухфазный бродильный метод

Первый этап (посев на глюкозо-пептонную среду):

§ 12. В зависимости от предполагаемого загрязнения для определения коли-титра берут исследуемую воду открытых водоемов в количестве 111,1 мл (и тогда высевают ее в объемах: 100 мл, 10 мл, 1 мл, 0,1 мл) или 11,11 мл (высевают 10 мл, 1 мл, 0,1 мл и 0,01 мл), или 1,111 (высевают 1 мл, 0,1 мл, 0,01 мл, 0,001 мл).

§ 13. Из грунтовых колодцев и водопроводов для посевов берется 300 мл воды (два объема по 100 мл и 10 объемов по 10 мл).

Вода артезианских скважин исследуется на наличие кишечной палочки в объеме 500 мл: 4 объема по 100 мл и 10 объемов по 10 мл.

§ 14. 100 мл исследуемой воды вливается в колбочку с 10 мл концентрированной глюкозо-пептонной среды, 10 мл — в пробирку с 1 мл концентрированной глюкозо-пептонной среды, а 1 мл и меньшие объемы исследуемой воды вносятся в пробирки с 10 мл разведенной (нормальной) глюкозо-пептонной среды.

Влитая вода тщательно перемешивается со средой. Поплавки должны быть заполнены средой. Если в них есть воздух, это отмечается на пробирке и в рабочем журнале.

§ 15. Посевы ставятся в термостат при 42—43° на 7—12 час. Второй этап — пересев на розоловый дифференциальный агар и учет результатов посевов.

§ 16. Через 7—12 час. учитываются результаты посевов на

§ 17. Независимо от признаков роста из всех бродильных сосудов производится пересев на розоловый дифференциальный агар (РДА). Для этого материал из ГПС захватывают петлей с крупным ушком, переносят в пробирку с РДА, слегка растирают в конденсационной жидкости, делают укол в столбик, не доводя петлю до дна пробирки, и, вынимая петлю, проводят ею штрих по скошенной поверхности агара.

§ 17. Независимо от признаков роста из всех бродильных сосудов производится пересев на розоловый дифференциальный агар (РДА). Для этого материал из ГПС захватывают петлей с крупным ушком, переносят в пробирку с РДА, слегка растирают в конденсационной жидкости, делают укол в столбик, не доводя петлю до дна пробирки, и, вынимая петлю, проводят ею штрих по скошенной поверхности агара.

Оставшиеся посевы на ГПС вновь ставят в термостат при 42—43°, так как они могут потребоваться в дальнейшем для повторных пересевов.

Оставшиеся посе́вы на ГПС вновь ставят в термостат при 42—43°, так как они могут потребоваться в дальнейшем для повторных пересевов.

Если при пересеве на РДА через 7—12 час. нет роста бактерий, а в ГПС через 12 час. роста появляется брожение или только помутнение, необходимо из этих пробирок вновь сделать посевы на РДА и выращивать его 10—12 час.

Если при пересеве на РДА через 7—12 час. нет роста бактерий, а в ГПС через 12 час. роста появляется брожение или только помутнение, необходимо из этих пробирок вновь сделать пересев на РДА и выращивать его 10—12 час.

Признаки обнаружения бактерий кишечной группы

Признаки обнаружения бактерий кишечной группы

результат считается положительным, если:

на РДА

на скошенной поверхности изоли-
рованные желтые колонии или рост
в виде желтого штриха на пожел-
тевшей среде;
столбик окрашен в желтый цвет с
разрывом; вспенивание конденса-
ционной жидкости;
в мазках — грам-отрицательные
короткие неспороносные палочки;

результат считается положительным, если:

на РДА

на скошенной поверхности среды вырастают серые колонии или серый штрих; цвет среды в скошенной части не изменяется или появляется малиновый оттенок в результате образо-

в) изменение
результат счит
на ГПС
имеется рост
зование или те

результат счит
на ГПС
имеется муть и
зование или то

§ 20. Результаты (табл. 1—5).

[illegible]

вания щелочи растущими бактериями; в столбике среда желтого цвета с разрывами в конденсационной жидкости;

в мазках — грам-отрицательные неспороносные палочки;

в) кишечная палочка в воде после хлорирования результат считается положительным, если:

на ГПС

имеется рост и газообразование или только муть;

на РДА

вырастают серые колонии, не изменяющие цвета среды и не дающие газообразования;

палочки грам-отрицательные и слабо подвижные (глубокие изменения свойств кишечной палочки под влиянием хлора);

результат считается отрицательным, если:

на ГПС

имеется муть и газообразование или только муть;

на РДА

изменений нет.

Определение коли-титра с помощью таблиц.
§ 20. Результаты анализа выражаются в виде коли-титра (табл. 1—5).

Таблица 1

Воды открытых водоемов

(реки, озера, и т. п.)

по объему 100 мл, 10 мл, 1 мл, 0,1 мл

100	10	1	0,1	Коли-титр	Коли-индекс
—	—	—	—	более 111	менее 9
—	—	—	+	111	9
—	—	+	—	111	9
—	+	—	—	105	9,5
—	—	+	+	56	18
—	+	—	+	53	19
—	+	+	—	46	22
+	—	—	—	43	23
—	+	+	+	36	28
+	—	—	+	11	92
+	—	+	—	10	94
+	—	+	+	6	180
+	+	—	—	4	230
+	+	—	+	1	960
+	+	+	—	0,4	2380
+	+	+	+	менее 0,4	более 2380

Таблица 2

Воды открытых водоемов
(реки, озера и т. п.)
по объему 10 мл, 1 мл, 0,01 мл

10	1	0,1	0,01	Коли-титр	Коли-индекс
—	—	—	—	более 11,1	менее 90
—	—	—	+	11,1	90
—	—	+	—	11,1	90
—	+	—	—	10,5	95
—	—	+	+	5,6	180
—	+	—	+	5,3	190
—	+	+	—	4,6	220
+	—	—	—	4,3	230
—	+	+	+	3,6	280
+	—	—	+	1,1	920
+	—	+	—	1,0	940
+	—	+	+	0,6	1800
+	+	—	—	0,4	2300
+	+	—	+	0,1	9600
+	+	+	—	0,04	23800
+	+	+	+	менее 0,04	менее 23800

Таблица 3

Воды открытых водоемов
(реки, озера и т. п.)
по объему 1 мл, 0,1 мл, 0,01 мл, 0,001 мл

1	0,1	0,01	0,001	Коли-титр	Коли-индекс
—	—	—	—	более 1,11	менее 900
—	—	—	+	1,11	900
—	—	+	—	1,11	900
—	+	—	—	1,05	950
—	—	+	+	0,56	1800
—	+	—	+	0,53	1900
—	+	+	—	0,46	2200
+	—	—	—	0,43	2300
—	+	+	+	0,36	2800
+	—	—	+	0,11	9200
+	—	+	—	0,10	9400
+	—	+	+	0,06	18000
+	+	—	—	0,04	23000
+	+	—	+	0,01	96000
+	+	+	—	0,004	238000
+	+	+	+	менее 0,004	более 238000

Таблица 4

Вода водопроводная, грунтовые колодцы и т. п.
Общий объем 300 мл
(два объема по 100 мл и 10 объемов по 10 мл)

Количество положительных объемов по 100 мл	Количество положительных объемов по 100 мл					
	0		1		2	
	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр
	менее	более				
0	3	333	4	250	11	91
1	3	333	8	125	18	56
2	7	143	13	77	27	37
3	11	91	18	56	38	26
4	14	71	24	42	52	19
5	18	56	30	33	70	14
6	22	45	36	28	92	11
7	27	37	43	23	120	8
8	31	32	51	20	161	6
9	36	28	60	17	230	4
10	40	25	69	14	более 230	менее 4

Таблица 5

Воды артезианских скважин
Общий объем 500 мл
(4 объема по 100 мл и 10 объемов по 10 мл)

Количество положительных объемов по 10 мл	Количество положительных объемов по 100 мл									
	0		1		2		3		4	
	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр	коли-индекс	коли-титр
	менее	более								
0	2	500	2	500	5	200	9	111	16	62
1	2	500	5	200	8	125	13	77	22	46
2	4	250	7	143	11	91	17	59	30	33
3	6	167	9	111	14	71	21	48	38	25
4	8	125	12	83	17	59	26	38	53	19
5	11	91	15	67	20	50	31	32	70	14
6	13	77	17	59	24	42	37	27	92	11
7	15	67	20	50	28	36	44	23	120	8
8	17	59	23	43	32	31	52	19	161	6
9	20	50	26	38	37	27	60	17	230	4
10	22	46	29	35	41	24	69	14	более 230	менее 4

2. Метод мембранных фильтров

§ 21. Для бактериологического анализа воды методом мембранных фильтров применяют прибор для фильтрации и мембранные фильтры № 3.

Прибор состоит из металлического столика и стеклянной воронки. Столик имеет керамическую пористую пластинку, на которую при фильтровании кладется мембранный фильтр. К столику при помощи кольца укрепляется стеклянная воронка емкостью 0,6 л. Собранный прибор резиновой пробкой укрепляется в горлышке колбы Бунзена, а последняя резиновым шлангом соединяется с водоструйным или иным насосом для создания в ней вакуума, ускоряющего процесс фильтрации.

§ 22. Подготовка мембранных фильтров для анализа состоит в следующем: их помещают в выпаривательную чашку или химический стакан с теплой дистиллированной водой и дважды кипятят по 15—20 мин., а для удаления оставшихся при обработке растворителей каждый раз меняют воду. Кипение должно быть ровное, иначе разрушится структура фильтров. Необходимые надписи на мембранных фильтрах делаются на «воздушной» (матовой) поверхности простым карандашом.

§ 23. Подготовка прибора для анализа: металлический столик, кольцо, стеклянную воронку, керамическую пластинку стерилизуют, обжигая спиртовым пламенем. Мембранные фильтры после кипячения охлаждают, стерильным пинцетом извлекают из воды и кладут на керамическую пластинку столика «зеркальной» стороной. Во избежание повреждений под мембранный фильтр подкладывается простерилизованный кружок из фильтровальной бумаги, смоченной стерильной водой. После этого на столик накладывается и закрепляется воронка прибора.

§ 24. Фильтрация исследуемой воды. Через мембранный фильтр вода пропускается с таким расчетом, чтобы на нем получилось не более 50 колоний кишечных палочек. Для чистых вод (артезианские скважины и т. п.) фильтруют обычно 300—500 мл. При анализе загрязненных вод проба перед фильтрованием разводится. Для этого в 100 мл стерильной воды вносят 1 мл испытуемой воды, тщательно перемешивают и фильтруют 1 мл и 10 мл полученного разведения, что соответствует посеву 0,01 и 0,1 мл исследуемой воды.

§ 25. Посев. В воронку фильтровального прибора стерильно наливают исследуемый объем воды, после чего создают вакуум в колбе Бунзена.

Закончив фильтрование, снимают воронку, обожженным пинцетом захватывают мембранный фильтр за край и накладывают на поверхность фуксин-сульфитного агара в чашке Петри, избегая образования пузырьков воздуха между поверхностями

агара и фильтра. Фильтр накладывается на среду так, чтобы «воздушная» поверхность его (с задержанными на ней микробами) была обращена вверх, а «зеркальная» сторона плотно прилегала к среде.

§ 26. Выращивание. Чашки с наложенными на поверхность фуксин-сульфитного агара фильтрами помещают крышками вниз в термостат при 37° на 24 часа.

При исследовании сильно загрязненных вод для заглушения сапрофитной микрофлоры выращивать агар рекомендуется при $42-43^{\circ}$ в увлажненной камере, для предохранения его от высыхания (по ГОСТу этот способ выращивания не предусмотрен).

§ 27. Счет колоний. Через 18—24 часа в термостате, пользуясь лупой, подсчитывают колонии, характерные для группы кишечной палочки, с последующим выборочным изучением 2—3 колоний, типично окрашенных и бесцветных.

§ 28. Учет результатов анализа. Отсутствие в мазках грам-отрицательных неспороносных палочек дает отрицательный ответ на наличие кишечной палочки. При наличии в мазках грам-отрицательных неспороносных палочек переходят ко второму этапу исследования (к постановке бродильной пробы).

§ 29. Проведение вторичной бродильной пробы. Из тех колоний, которые были использованы для изготовления мазков для окраски по Граму, должны быть сделаны посевы в бродильные сосуды с 10 мл разведенной глюкозо-пептонной среды. Посевы выращивают 24 часа при 43° .

Отсутствие газообразования в посевах дает отрицательный ответ на наличие кишечной палочки, наличие газообразования — положительный.

§ 30. Выражение результатов анализа в виде коли-индекса. Подсчитывается количество грам-отрицательных палочек (см. § 27), выросших на мембранном фильтре с характерным ростом на фуксин-сульфитном агаре и дающих газообразование на глюкозо-пептонной среде при 43° . Коли-индекс — количество грам-отрицательных палочек в 1 л воды.

Пример. Через мембранный фильтр было профильтровано 200 мл исследуемой воды. Через 18 час. выделено на мембранном фильтре 4 колонии с характерным для группы кишечной палочки ростом на фуксин-сульфитном агаре. Микроскопированием установлено, что это грам-отрицательные палочки, морфологически схожие с кишечной палочкой. При пересеве материала из каждой колонии и выращивании их при $42-43^{\circ}$ обнаружено газообразование в посевах из каждой колонии. Значит, из 200 мл исследуемой воды было выделено 4 кишечных палочки, а коли-индекс исследуемой воды будет равен 20 (4×5).

Методы идентификации выделенных культур

Физиологические признаки, по которым различаются подгруппы *B. coli* *commune* и *B. coli* *aerogenes*, следующие:

а) реакция среды Кларка по метилрот (интервал pH 4,4—6,0) в кислой среде имеет красный цвет, в щелочной — желтый. Появление красной окраски свидетельствует о том, что благодаря жизнедеятельности развившейся культуры *B. coli* *commune* pH среды изменяется с 7,0 до величины меньшей 4,4. Появление желтой окраски свидетельствует о том, что реакция среды под влиянием жизнедеятельности *B. coli* *aerogenes* не изменяет pH ниже 6 (по метилроту);

б) положительная или отрицательная реакция Фогес-Проскауера. Положительную реакцию появление эозиново-красной окраски среды дает подгруппа *B. coli* *aerogenes* и не дает *B. coli* *commune*;

в) отношение к лимоннокислому натрию как источнику углерода. Подгруппа коли-аэрогенес способна, а подгруппа коли-фекальная неспособна использовать лимоннокислый натрий в качестве источника углерода:

Подгруппа	Реакция с метилротом (среда Кларка)	Реакция Фогес-Проскауера	Среда Симмонса
<i>B. coli</i> <i>commune</i>	— (красн.)	—	—
<i>B. coli</i> <i>aerogenes</i>	— (желт.)	— (красн.)	—
<i>B. paracoli</i>	—	—	—

Реакция с метилротом. Пробирка с 10 мл среды Кларка засеивается испытуемой культурой и выдерживается четыре дня в термостате при 37°. Затем отливают 5 мл культуры в другую пробирку и добавляют туда 5 капель индикатора метилрота. Появление красной окраски в среде дает подгруппа коли-фекальная (реакция +). Появление желтой окраски в среде дает подгруппа коли-аэрогенес (реакция —).

Реакция Фогес-Проскауера. К оставшимся 5 мл культуры в среде Кларка добавляют 5 мл 5%-ного КОН, ставят пробирку в термостат при 37° на ночь. Появление эозиново-красной окраски среды считается положительной реакцией. Ее дает подгруппа коли-аэрогенес. Отрицательную реакцию (среда без изменения) дает подгруппа коли-фекальная.

Приготовление питательных сред

Глюкозо-пептонная среда (среда Эйкмана):

а) концентрированная среда: в 1 л воды растворяют 50 г хлористого натрия и 100 г пептона, нагревают до кипения, фильтруют, добавляют 50 г глюкозы, устанавливают рН 7,4—7,6, разливают в колбочки с поплавками по 10 мл и пробирки по 1 мл, стерилизуют текучим паром в течение 30 мин. (считая с момента, когда термометр покажет 100°) три дня подряд;

б) разведенная (нормальная): в 1 л воды растворяют 5 г хлористого натрия и 10 г пептона, нагревают до кипения, фильтруют, добавляют 5 г глюкозы, устанавливают рН 7,4—7,6, разливают по 10 мл в пробирки с поплавками и стерилизуют текучим паром в течение 30 мин. три дня подряд.

Розоловая дифференциальная среда (по Г. М. Киченко).

К 1 л мясо-пептонного 1,5%-ного агара с рН 7,4—7,6 добавляют 50 мл жидкой желчи или из того же расчета сухой желчи, 10 г лактозы, 1 г глюкозы, 2 мл 1%-ного спиртового раствора бромтимолблау и 2 мл 5%-ного спиртового раствора розоловой кислоты. Полученную среду тщательно смешивают и проверяют на буферную способность следующим образом: 1—2 капли приготовленной среды помещают на стекло, чашку Петри или белую фарфоровую пластинку. Когда среда затвердеет, на ее поверхность наносят каплю 10%-ной соляной кислоты и рядом (чтобы капли не смешивались) каплю 10%-ного раствора едкого или углекислого натра. Правильно приготовленная среда должна иметь с индикатором бромтимолблау коричнево-красный цвет, а без него — бледно-розовый; она должна быстро изменять цвет в желтый от кислоты и в слабомалиновый от щелочи. Если реакция протекает медленно (неправильно установленный рН МПА), необходимо для получения быстрого изменения окраски добавить к среде 10%-ный раствор соляной кислоты, если среда интенсивно малинового цвета, или 10%-ный раствор щелочи, если среда серо-желтого цвета. После этого среду надо снова проверить на буферную способность.

Приготовленную среду — РДА — разливают в серологические или узкие бактериологические пробирки, заполняя их до $\frac{1}{4}$ высоты, стерилизуют и хранят в вертикальном положении до застывания. Перед употреблением среду предварительно расплавляют, а затем пробирки наклоняют так, чтобы застывая, среда приняла форму столбика с небольшим скосом.

Стерилизуют готовый РДА в автоклаве, предварительно нагретом до парообразования под давлением 0,5 атм в течение 10 мин. По окончании стерилизации пар спускают и тотчас же откручивают крышку автоклава. После того, как пар выйдет, среду вынимают из автоклава. Остывшую среду помещают в термо-

стат на двое суток для проверки на стерильность и сушки пробирок.

Примечание. РДА можно готовить и без бромтимолблау.

Среда Симмонса (среда с лимоннокислым натрием).

В 1 л стерильной дистиллированной воды растворяют 5 г хлористого натра, 0,2 г сернокислого магния, 1 г двуосновного фосфорнокислого аммония, 1 г двуосновного фосфорнокислого калия, 2 г кристаллического лимоннокислого натрия; pH раствора = 6,8. Раствор стерилизуют текучим паром три дня подряд по 20 мин.

В раствор, подогретый до 50—60°, добавляют агар (20 г на 1 л). Навеску агара предварительно размачивают в стерильной дистиллированной воде и разбухшие кусочки стерилизуют с минимальным количеством воды в автоклаве. Вылив этот густой расплавленный агар в подогретую, как указано выше, среду, ее хорошо взбалтывают и разливают в колбочки по 25 мл. До этого в расплавленную среду добавляется индикатор — водный раствор бромтимолблау. Этот раствор индикатора готовится растиранием в стерильной ступке 0,1 г этой краски в 3—4 мл 20 н раствора NaOH.

После полного растворения к краске доливается до 25 мл стерильная дистиллированная вода. Полученный таким образом 0,4%-ный раствор индикатора стерильно добавляется на каждые 25 мл расплавленной среды по 0,5 мл.

Испытуемая культура, высеянная на среду Симмонса, выдерживается в термостате 23—38 час. при 37°.

Подгруппа коли-аэрогенес дает рост на среде, окрашивая ее вблизи штриха в синий цвет, что признается положительной реакцией. Подгруппа коли-фекальная не дает роста на среде Симмонса, поэтому цвет ее не изменяется, что считается реакцией отрицательной.

Среда Кларка.

Среда Кларка, используемая для биохимических реакций с метилротом и для реакции Фогес-Проскауера, состоит из 1 л дистиллированной воды, 5 г пептона, 5 г глюкозы химически чистой, 5 г двузамещенного фосфорнокислого калия кристаллического.

Приготовление: растворить пептон в воде при нагревании, вскипятить, профильтровать через стерильный бумажный фильтр в стерильную колбу, не подогревая, всыпать, по возможности стерильно, глюкозу и фосфат калия, разлить в стерильные пробирки по 10 мл и стерилизовать дробно текучим паром три дня подряд по 20 мин. Индикатором является спиртовой раствор метилрота. Для получения его растворяют 0,1 г краски в 300 мл 96%-ного этилового спирта и разбавляют дистиллированной водой до 500 мл.

Реакции с метилротом и Фогес-Проскауера (на ацетил-метил-карбинол) описаны на стр. 280.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОГО РАВНОВЕСИЯ В ОРГАНИЗМЕ

КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОЕ равновесие — относительные количества кислот и оснований в жидкостях организма, обуславливающие их активную реакцию (рН).

Нормальная жизнь живого организма может протекать лишь в случае неизменности кислотно-щелочного равновесия внутренней среды. Изменение этого равновесия в кислую (ацидоз) или щелочную (алкалоз) сторону является причиной болезненного состояния организма.

Кислотно-щелочное равновесие и особенно обусловленная им активная реакция крови в норме весьма постоянны, что обеспечивается наличием в организме регуляторных факторов. К ним относятся буфера крови, способствующие выравниванию активной реакции, а также деятельность ряда внутренних органов (почки, кишечник, легкие и т. д.), выделяющих как кислоты, так и основания, или синтезирующих нейтральную мочевины из аммиака и угольной кислоты (печень).

В крови находятся следующие буферные системы:

1) угольная кислота — бикарбонаты
$$\frac{\text{H}_2\text{CO}_3}{\text{NaHCO}_3},$$

2) фосфатная
$$\frac{\text{NaH}_2\text{PO}_4}{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$$

3) белки плазмы;

4) гемоглобин-оксигемоглобин.

Если к жидкости, содержащей, например, карбонатный буфер $\frac{\text{H}_2\text{CO}_3}{\text{NaHCO}_3}$, прибавить соляной кислоты, то последняя вступит в реакцию с кислым двууглекислым натрием, в результате образуются хлористый натрий и угольная кислота ($\text{HCl} + \text{NaHCO}_3 = \text{NaCl} + \text{H}_2\text{CO}_3$). Хлористый натрий является нейтральным веществом, H_2CO_3 — очень слабая кислота, почти не увеличивающая активной кислотности среды.

Буферное действие фосфатной буферной системы обусловлено изменением соотношения между кислореагирующей (однометаллической) и щелочнореагирующей (двуметаллической) солями. Белки и продукты их гидролиза оказывают буферное действие, так как имеют характер амфотерных электролитов и могут связывать как кислоты, так и основания.

В системе гемоглобин-оксигемоглобин первый, обладая менее кислым свойством, связывает угольную кислоту, а образующийся при присоединении кислорода оксигемоглобин, обладая более кислым характером, вытесняет угольную кислоту и связывает основания. Таким образом, при наличии в жидкостях и тканях буферных систем даже сильные кислоты (или щелочи) почти не нарушают активности реакции.

Так как концентрация водородных ионов обуславливается формулой $[H^+] = K \frac{\text{слабая кислота}}{\text{соль слабой кислоты}}$, то можно, меняя концентрацию слабой кислоты или ее соли, готовить буферные смеси с любым рН. Буферные смеси, смеси слабых кислот или оснований с их солями могут противодействовать резкому изменению концентрации водородных ионов.

Суть буферного действия заключается в следующем: поступающие в организм сильные кислоты или основания вытесняют из солей буферной системы соответствующее им количество слабых кислот или оснований, которые, вследствие малой электролитической диссоциации, в меньшей мере изменяют активную реакцию среды, чем сильные кислоты или основания в незабуференной системе.

Ацидоз — образование и накопление в организме избытка различных кислот и кислых продуктов обмена веществ и обусловленный этим сдвиг значения рН в кислую область.

Причины ацидоза: 1) увеличенное образование кислых веществ вследствие их неполного сгорания в связи с нарушением обмена; 2) недостаточное выведение кислот из организма на почве заболевания выводящих систем (легких, почек, кожи).

Буферные вещества могут связать большое количество кислот, не допуская этим изменения активной реакции крови. Если же буферные вещества уже исчерпаны, а выделительные аппараты не в состоянии вывести из организма кислые продукты, то может наступить глубокий, так называемый некомпенсированный ацидоз. Он наблюдается при многих заболеваниях, а также при нарушении белкового, минерального, витаминного обменов и ацетонемии крупного рогатого скота.

Резервная щелочность определяется запасом в крови бикарбонатов, способных нейтрализовать поступающие в нее кислоты. Чем меньше в запасе бикарбонатов, тем значительнее нарушение щелочно-кислотного равновесия, тем больше опасность, что реакция крови не удержится на постоянном уровне. Щелочной резерв крови определяется газометрически и химически.

ГАЗОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЩЕЛОЧНОГО РЕЗЕРВА ПЛАЗМЫ КРОВИ (по Ван-Слайку)

Этот метод основан на измерении того количества CO_2 , которое можно вытеснить из плазмы крови и которое находится в равновесии с 5,5% атмосферной углекислоты.

Определив количество находящейся в крови углекислоты, получают представление о величине тех оснований, с которыми она была связана, и о том количестве кислоты, которое эти основания способны связать.

Аппаратура и реактивы:

1) аппарат Ван-Слайка; 2) прибор для насыщения плазмы углекислотой; 3) кровопускательные иглы; 4) шприц на 10—20 мл; 5) центрифуга; 6) центрифужные пробирки; 7) градуированные пипетки на 1 мл; 8) 1%-ный раствор аммиака, не содержащий углекислоты (его можно получить, осадив CO_2 при помощи $\text{Ba}(\text{OH})_2$; раствор фильтруют, избыток $\text{Ba}(\text{OH})_2$ осаждают $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 9) октиловый или каприловый спирт; 10) 10%-ная химически чистая серная кислота; 11) тщательно измельченный нейтральный щавелевокислый калий; 12) 1,5 кг металлической ртути; 13) смазка для кранов, приготовленная из равного количества вазелина и воска, смешанных в расплавленном состоянии.

Аппарат Ван-Слайка (рис. 58) состоит из пипетки емкостью 50 см^3 , верхняя часть ее, вытянутая в узкую трубку, вмещает 1 мл и градуирована по 0,2 см^3 .

Краны следует смазывать, избегая попадания смазки внутрь аппарата. Весь аппарат обычно делается из толстого стекла и укрепляется на тяжелом металлическом штативе прочными металлическими зажимами, лапки которых обтянуты резиной. Перед исследованием его моют хромовой смесью, тщательно споласкивают простой и дистиллированной водой и сушат в термостате, предварительно высушив краны. Для насыщения плазмы углекислотой используют особый прибор. Стеклобанку наполняют почти доверху стеклянными или фарфоровыми бусами и плотно закрывают резиновой пробкой, сквозь которую проходят две стеклянные трубки; одна из них доходит почти до дна банки, другая заканчивается под пробкой. Наружные концы обеих трубок загнуты под прямым углом; конец второй, короткой трубки, с помощью резиновой трубки соединяется с концом шарообразной делительной воронки емкостью 300 см^3 .

Ход определения. Один кран соединяют с воронкой, а другой поворачивают так, чтобы пипетка была соединена с резервуаром. Всю ртуть выливают в воронку, которую берут в левую руку и держат на такой высоте, чтобы ртуть медленно поступала в аппарат. Когда ртуть поднимется выше крана, его поворачи-

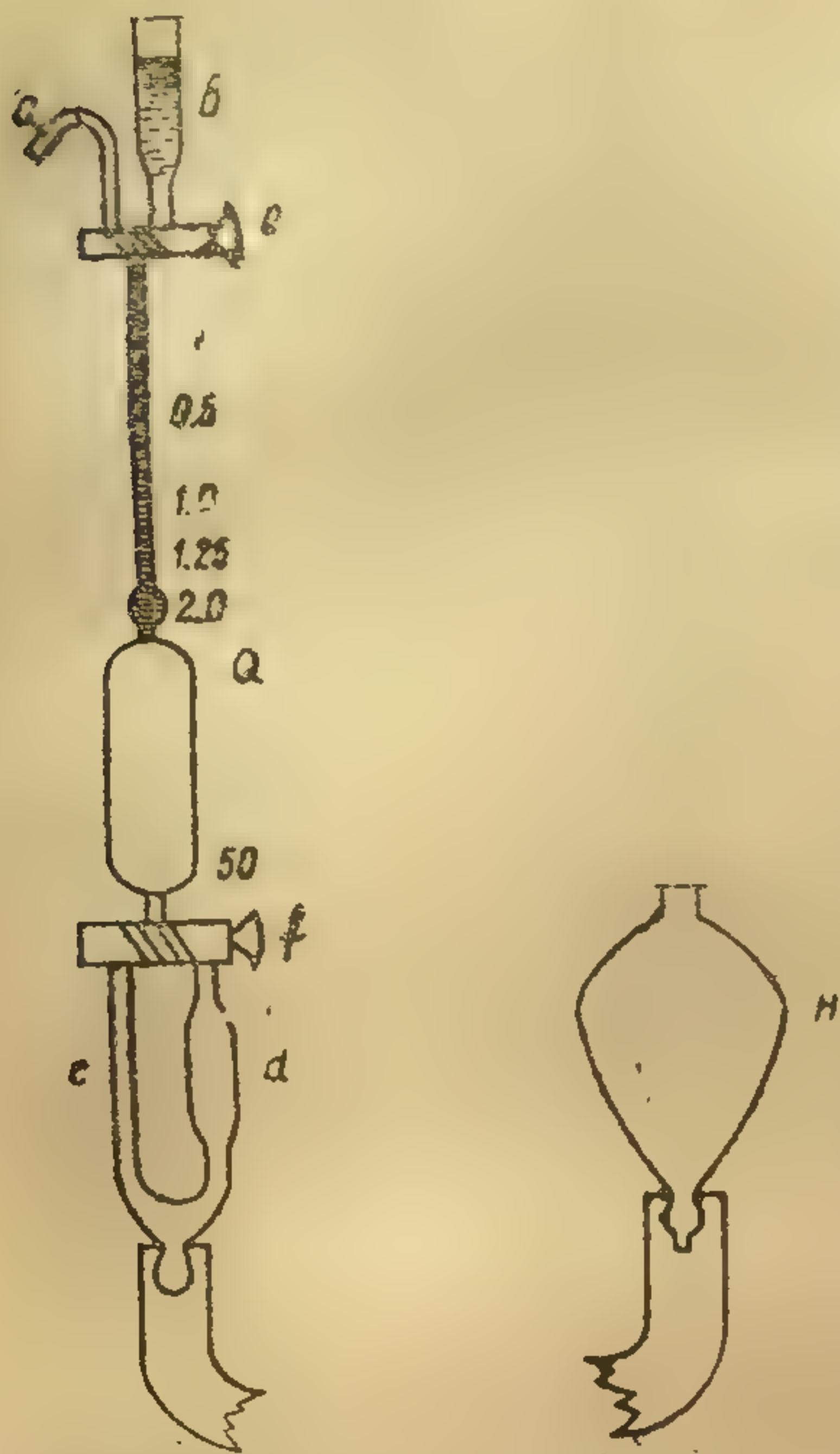


Рис. 58. Аппарат Ван-Слайка для определения резервной щелочности: а — отводная трубка; в — градуированная воронка; с — резервуар; d — резервуар для жидкости после освобождения ее от углекислоты; е — верхний кран; f — нижний кран; н — стеклянная воронка

том. Затем кровь центрифугируют и полученную плазму тотчас сливают с осадка эритроцитов или осторожно отсасывают пипеткой и переносят в делительную воронку для насыщения углекислотой. Для этого открывают кран делительной воронки, вынимают пробку н, взяв в рот конец более длинной стеклянной трубки, медленно выдувают воздух после обыкновенного, неглубокого вдоха.

Альвеолярный воздух, содержащий около 5,5% углекислоты, пройдя через стеклянную трубку и отдав содержащуюся влагу, поступает в делительную воронку и замещает имеющийся в ней воздух. Перед окончанием выдоха закрывают пробку воронки и поворачивают кран, несколькими вращательными движениями распределяют плазму по стенкам воронки так, чтобы она по-

ют на соединение с другой частью прибора, также заполняемой ртутью. Когда капля ртути показывается в воронке, кран соединяют с трубкой, впускают туда каплю ртути, после чего кран закрывают. Воронку, в которой должно оставаться около $\frac{1}{3}$ ртути, медленно опускают, одновременно опускается и ртуть в приборе. Если ни в самом приборе, ни в резиновой трубке не осталось воздуха и оба крана хорошо притерты, то в градуированной части пипетки образуется разреженное пространство. Воронку с ртутью снова поднимают, при этом ртуть, ударяясь о кран, издает громкий металлический звук, который служит доказательством того, что краны воздуха не пропускают, а аппарат пригоден для работы.

В градуированную центрифужную пробирку предварительно вносят около 20 мг щавелевокислого кальция, а затем набирают из вены (лучше шприцем) 10 мл крови и тщательно перемешивают ее с оксала-

крыла возможно большую поверхность и лучше насытилась углекислотой. Выдыхание воздуха повторяется несколько раз, затем воронка закрывается с обеих сторон и ставится на несколько минут вертикально, чтобы плазма собралась на дне. После такой предварительной обработки плазма готова для исследования.

В воронку прибора (рис. 59), на дне которой должно находиться несколько капель ртути, наливают аммиак, чтобы обмыть стенки, затем его удаляют пипеткой и заменяют новой порцией, от которой отсасывают такое количество, чтобы в углублении воронки оставалось около 0,5 мл.

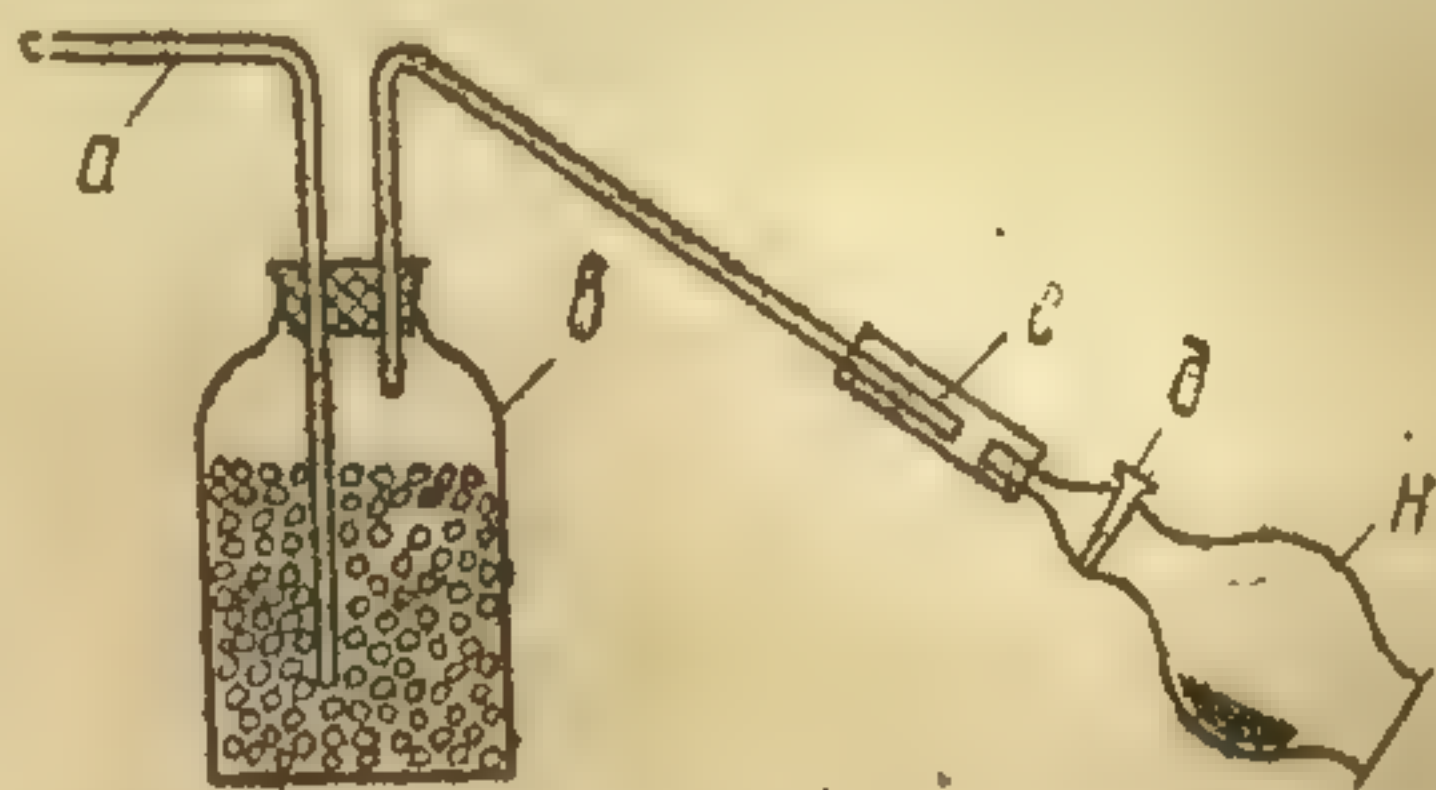


Рис. 59. Приспособление для насыщения плазмы углекислотой: а и с — стеклянные трубки; d — кран; в — банка с бусами; Н — делительная воронка с пробкой

Насыщенную углекислотой плазму набирают в точно выверенную пипетку и вносят 1 мл ее в воронку, при этом конец пипетки должен быть погружен в аммиак для того, чтобы вносимая плазма попала под аммиак, не соприкасаясь с наружным воздухом. Краны осторожно открывают и медленно опускают воронку с ртутью так, чтобы плазма и аммиак перешли в капиллярную часть аппарата. В воронке остается несколько капель аммиака. Кран закрывают. Затем в капилляр наливают 0,5 мл дистиллированной воды, освобожденной от углекислоты кипячением, и также всасывают ее в аппарат, оставляя несколько капель над краном; кран закрывают. Далее наливают туда же маленькую каплю октилового спирта, 0,5 мл 10%-ной серной кислоты и всасывают жидкость в аппарат. В воронку наливают еще 0,5 мл дистиллированной воды и всасывают ее столько, сколько необходимо для установления общего уровня жидкости в аппарате до 2,5 мл. Кран закрывают, а воронку опускают, чтобы уровень ртути дошел до метки 50. Затем вынимают весь аппарат из зажимов и переворачивают его 15–20 раз для перемешивания жидкости. Аппарат вновь укрепляют на штативе и осторожно открывают кран, а также опускают воронку и жидкость спускается в колено, причем небольшое количество ее должно остаться над краном, чтобы газ не перешел в колено. Воронку Н немного поднимают, поворачивая в то же время кран для соединения с ампулообразным расширением колена а и колена с. При этом ртуть по колену с поднимается обратно в пипетку и заполняет ее целиком, за исключением той части градуированного отрезка, которая занята освободившейся углекислотой. Над столбиком ртути остается 5–10 мл жид-

кости, не спущенной в колено. Воронку Н держат таким образом, чтобы уровень ртути в ней и в капиллярной части пипетки был на одной высоте. После этого отмечают с точностью до 0,01 см³ объем, занятый образовавшимся газом, и на этом исследование заканчивают.

Количество углекислоты, содержащееся в плазме после приведения ее в состояние газового равновесия с альвеолярным воздухом, подсчитывается следующим образом: найденный объем газа V_1 приводят к объему при 760 мм давления, что делается на основании формулы:

$$V = \frac{V_1 \cdot P_1}{760},$$

где P_1 — барометрическое давление.

Определение резервной щелочности

$X \frac{B}{760}$	100 мл плазмы связывают в виде бикарбоната CO ₂ (см ³) при 0° и 760 мм				$X \frac{B}{760}$	100 мл плазмы связывают в виде бикарбоната CO ₂ (см ³) при 0° и 760 мм			
	15°	20°	25°	30°		15	20°	25°	30°
1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
0,20	9,1	9,9	10,7	11,8	0,52	40,0	40,4	40,9	41,2
0,21	10,1	10,9	11,7	12,6	0,53	41,0	41,4	41,9	42,3
0,22	11,0	11,8	12,6	13,5	0,54	42,0	42,4	42,8	43,0
0,23	12,0	12,8	13,6	14,3	0,55	42,9	43,3	43,8	43,8
0,24	13,0	13,7	14,5	15,2	0,56	43,9	44,3	44,7	44,9
0,25	13,9	14,7	15,5	16,1	0,57	44,9	45,3	45,7	45,8
0,26	14,9	15,7	16,4	17,0	0,58	45,8	46,2	46,6	46,7
0,27	15,9	16,6	17,4	18,0	0,59	46,8	47,1	47,5	47,6
0,28	16,8	17,6	18,3	18,9	0,60	47,7	48,1	48,5	48,6
0,29	17,8	18,5	19,2	19,8	0,61	48,7	49,0	49,4	49,5
0,30	18,8	19,5	20,2	20,8	0,62	49,7	50,0	50,4	50,4
0,31	19,7	20,4	21,1	21,7	0,63	50,7	51,0	51,3	51,4
0,32	20,7	21,4	22,1	22,6	0,64	51,6	51,9	52,2	52,3
0,33	21,7	22,3	23,0	23,5	0,65	52,6	52,8	53,2	53,2
0,34	22,6	23,3	24,0	24,5	0,66	53,6	53,8	54,1	54,1
0,35	23,6	24,2	24,9	25,4	0,67	54,5	54,8	55,1	55,1
0,36	24,6	25,2	25,8	26,3	0,68	55,5	55,7	56,0	56,0
0,37	25,5	26,2	26,8	27,3	0,69	56,5	56,7	57,0	57,0
0,38	26,5	27,1	27,7	28,2	0,70	57,4	57,6	57,9	57,9
0,39	27,5	28,1	28,7	29,1	0,71	58,4	58,6	58,9	58,8
0,40	28,4	29,0	29,6	30,0	0,72	59,4	59,5	59,8	59,7
0,41	29,4	30,0	30,5	31,0	0,73	60,3	60,5	60,7	60,6
0,42	30,3	30,9	31,5	31,9	0,74	61,3	61,4	61,7	61,6
0,43	31,3	31,9	32,4	32,8	0,75	62,3	62,4	62,6	62,5
0,44	32,3	32,8	33,4	33,8	0,76	63,2	63,3	63,6	63,4
0,45	33,2	33,8	34,3	34,7	0,77	64,2	64,3	64,5	64,3
0,46	34,2	34,7	35,3	35,6	0,78	65,2	65,3	65,5	65,3
0,47	35,2	35,7	36,2	36,5	0,79	66,1	66,2	66,4	66,2
0,48	36,1	36,6	37,2	37,4	0,80	67,1	67,2	67,3	67,1
0,49	37,1	37,6	38,1	38,4	0,81	68,1	68,1	68,3	68,0
0,50	38,1	38,5	39,0	39,3	0,82	69,0	69,1	69,2	69,0
0,51	38,1	39,5	40,0	40,3	0,83	70,0	70,0	70,8	69,9

Продолжение

$X \frac{B}{760}$	100 мл плазмы связывают в виде бикарбоната CO_2 (см ³) при 0° и 760 мм				$X \frac{B}{760}$	100 мл плазмы связывают в виде бикарбоната CO_2 (см ³) при 0° и 760 мм			
	15°	20°	25°	30°		15°	20°	25°	30°
1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
0,84	71,0	71,0	71,1	70,8	0,93	79,7	79,6	79,6	79,2
0,85	71,9	72,0	72,1	71,8	0,94	80,7	80,5	80,6	80,1
0,86	72,9	73,9	73,0	72,7	0,95	81,6	81,5	81,5	81,1
0,87	73,9	73,9	74,0	73,6	0,96	82,6	82,5	82,4	82,0
0,88	74,8	74,8	74,9	74,5	0,97	83,6	83,4	83,4	82,9
0,89	75,8	75,8	75,8	75,4	0,98	84,5	84,4	84,3	83,8
0,90	76,8	76,7	76,8	76,4	0,99	85,5	85,3	85,2	84,8
0,91	77,8	77,7	77,7	77,3	1,00	86,5	86,2	86,2	85,7
0,92	78,7	78,6	78,7	78,2					

Затем ищут по таблице величину резервной щелочности. Ван-Слайк и Куллен разработали таблицу, по которой можно по произведению $V \times \frac{B}{760}$ найти число кубических сантиметров CO_2 , которые 100 мл плазмы могут связать в виде бикарбоната при температуре 0° и 760 мм барометрического давления; для промежуточной температуры берут среднюю величину.

Определение коэффициента $\frac{B}{760}$

Давление барометра во время исследования (B)	$\frac{B}{760}$	Давление барометра во время исследования (B)	$\frac{B}{760}$
732	0,961	756	0,995
734	0,966	758	0,997
736	0,967	760	1,000
738	0,971	762	1,003
740	0,974	764	1,006
742	0,976	766	1,008
744	0,979	768	1,011
746	0,981	770	1,013
748	0,984	772	1,016
750	0,987	774	1,018
752	0,989	776	1,021
754	0,992	778	1,024

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЩЕЛОЧНОГО РЕЗЕРВА КРОВИ (по Неводову)

В основе метода лежит определение общей кислотной емкости крови.

Оборудование и реактивы. Микробюретка, химические стаканчики, микропипетки, пипетки, 0,1 н раствор едкого натра, 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина.

Ход исследования. В химический стаканчик берется 10 мл 0,01 н раствора соляной кислоты и 0,2 мл крови, смешивается и титруется из микробюретки 0,1 н раствором едкой щелочи до появления помутнения и выпадения белых хлопьев. Параллельно проводится контрольный опыт, т. е. без крови: берется 10 мл 0,01 н раствора соляной кислоты, 2 капли 1%-ного раствора фенолфталеина и оттитровывается 0,1 н раствором едкого натра до появления бледно-розового окрашивания.

Расчет. 0,01 н раствор NaOH содержит 0,04 мг NaOH, а 0,2 мл крови составляет 1/500 часть 100 мл крови, следовательно, при увеличении 0,04 мг в 500 раз имеем коэффициент 20, или, другими словами, каждые 0,01 мл 0,1 н раствора NaOH при исходном количестве крови 0,2 мл равны в переводе на 100 мл крови и на проценты 20 мг%.

Отсюда:

$$x = (a - b) \cdot 20 \cdot 100,$$

где x — мг% резервной щелочности крови,

a — количество 0,01 н раствора NaOH (мл), потраченное на титрование 10 мл 0,01 н раствора HCl в контрольном опыте,

b — количество 0,1 н раствора NaOH (мл), потраченное на титрование испытуемого раствора,

20 — постоянный коэффициент,

100 — приведение к 100 мл крови.

Пример. Потрачено 0,74 мл 0,1 н раствора NaOH, контрольный опыт равен 1,0; отсюда: $x = (1,0 - 0,74) \cdot 20 \cdot 100 = 520$ мг%.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЩЕЛОЧНОГО РЕЗЕРВА КРОВИ (по Неводову), ВИДОИЗМЕНЕННАЯ П. Т. ЛЕБЕДЕВЫМ И П. В. КОВАЛЕВОЙ (СибНИВИ)

В основе лежит определение общей кислотной емкости крови.

Оборудование и реактивы. Микробюретки, химические стаканчики, пробирки, резиновые пробки к ним, штативы, пипетки на 1 мл, 0,01 н раствор соляной кислоты, 0,1 н раствор едкого натра, 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина.

Ход исследования. В чистую бактериологическую пробирку наливают 10 мл 0,01 н раствора HCl и плотно закрывают резиновой пробкой. Из вены животного берут в другую пробирку 3—5 мл крови, сразу же пипеткой отмеривают 0,2 мл и переносят в пробирку с соляной кислотой. Пробирку встряхивают, закрывают пробкой, этикетировать и переносят в лабораторию. В

таким виде проба может храниться 2—3 дня. Содержимое пробирки переливают в химический стаканчик и титруют из микробюретки 0,1 н раствором едкого натра до появления помутнения и выпадения хлопьев (облаковидного помутнения). Параллельно проводят контрольный опыт, т. е. без крови. Берут 10 мл 0,01 н раствора HCl , 2 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором NaOH до появления бледно-розового окрашивания.

Расчет такой же, как в предыдущем исследовании.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЩЕЛОЧНОГО РЕЗЕРВА СЫВОРОТКИ КРОВИ¹

В основе лежит определение кислотной емкости сыворотки крови.

Оборудование и реактивы. Микробюретки, микропипетки, химические стаканчики, пробирки и штативы, 0,01 н раствор соляной кислоты, 0,1 н раствор едкого натра, 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина.

Ход исследования. Из вены животного берут 3—5 мл крови, помещают в чистую бактериологическую пробирку, отстаивают сыворотку, сливают ее в другую пробирку. Затем микропипеткой берут 0,2 мл сыворотки крови в химический стаканчик, в который предварительно наливают 10 мл 0,01 н раствора HCl , и титруют из микробюретки 0,1 н раствором NaOH до появления облаковидного помутнения. Параллельно проводят контрольный опыт, т. е. без сыворотки крови. Берут 10 мл 0,01 н раствора HCl , 2 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором NaOH до появления бледно-розового окрашивания.

Расчет такой же, как в методике Неводова.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ ЖИВОТНЫХ

Содержание гемоглобина в крови животных колеблется и зависит от вида, возраста, пола, породы, характера кормления, эксплуатации, состояния здоровья и ряда других условий.

Увеличение количества гемоглобина наблюдается при полицитемиях, мышечных утомлениях, нахождении в горной местности, а также при различных патологических состояниях, сопровождающихся сгущением крови (понос, потение, рвота, полиурия, образование экссудата и транссудата, непроходимость кишечника).

Уменьшение количества гемоглобина встречается чаще и

¹ Предложена отделом зоогигиены СибНИВИ.

может быть при различных инфекционных и инвазионных заболеваниях, при истощении, различных отравлениях, после обильных кровопотерь и при ряде заболеваний, сопровождающихся развитием анемии.

Принцип метода. Содержание гемоглобина в крови можно определять спектральным методом, устанавливая количество железа, или колориметрическим, измеряя содержание красящего вещества в крови при сравнении с цветным стандартом. В практике ветеринарных исследований пользуются колориметрическим методом, основанным на измерении интенсивности окраски, с помощью гемометра. Определение основано на переходе гемоглобина в растворе соляной кислоты в солянокислый гематин с последующим сравнением с гематином определенной концентрации, взятым в качестве стандарта.

Колориметрическое определение гемоглобина крови производится гемометром типа ГС-3 (рис. 60).

Гемометр состоит из корпуса-стойки 1 с тремя смотровыми окошками. Снизу корпус закрывается крышкой 2, привинчивающейся двумя винтами 3.

В два гнезда снизу вставляются одинаковые запаянные пробирки со стандартной цветной жидкостью и закрепляются крышкой 2. В среднее гнездо сверху вставляется градуированная пробирка 5.

Цвет жидкости запаянных пробирок-стандартов установлен соответственно цвету раствора солянокислого гематина, полученного из крови с концентрацией гемоглобина 2 г%.

В задней стенке корпуса вмонтировано прозрачно-матовое или молочного цвета стекло 6. Как на градуированной пробирке, так и на запаянных пробирках со стандартной жидкостью нанесены две контрольные круговые метки. Нижняя метка соответствует емкости 0,2 мл, верхняя — 2 мл.

Градуированные (2 шт.) и запаянные пробирки «цветные стандарты» (2 шт.), входящие в один комплект гемометра, подобраны таким образом, что расстояние между контрольными круговыми метками всех четырех пробирок одинаково.

Это значит, что и внутренние диаметры всех четырех пробирок также равны. Одинаковость внутренних диаметров пробирок и стандартов является непременным условием правильности показаний гемометра.

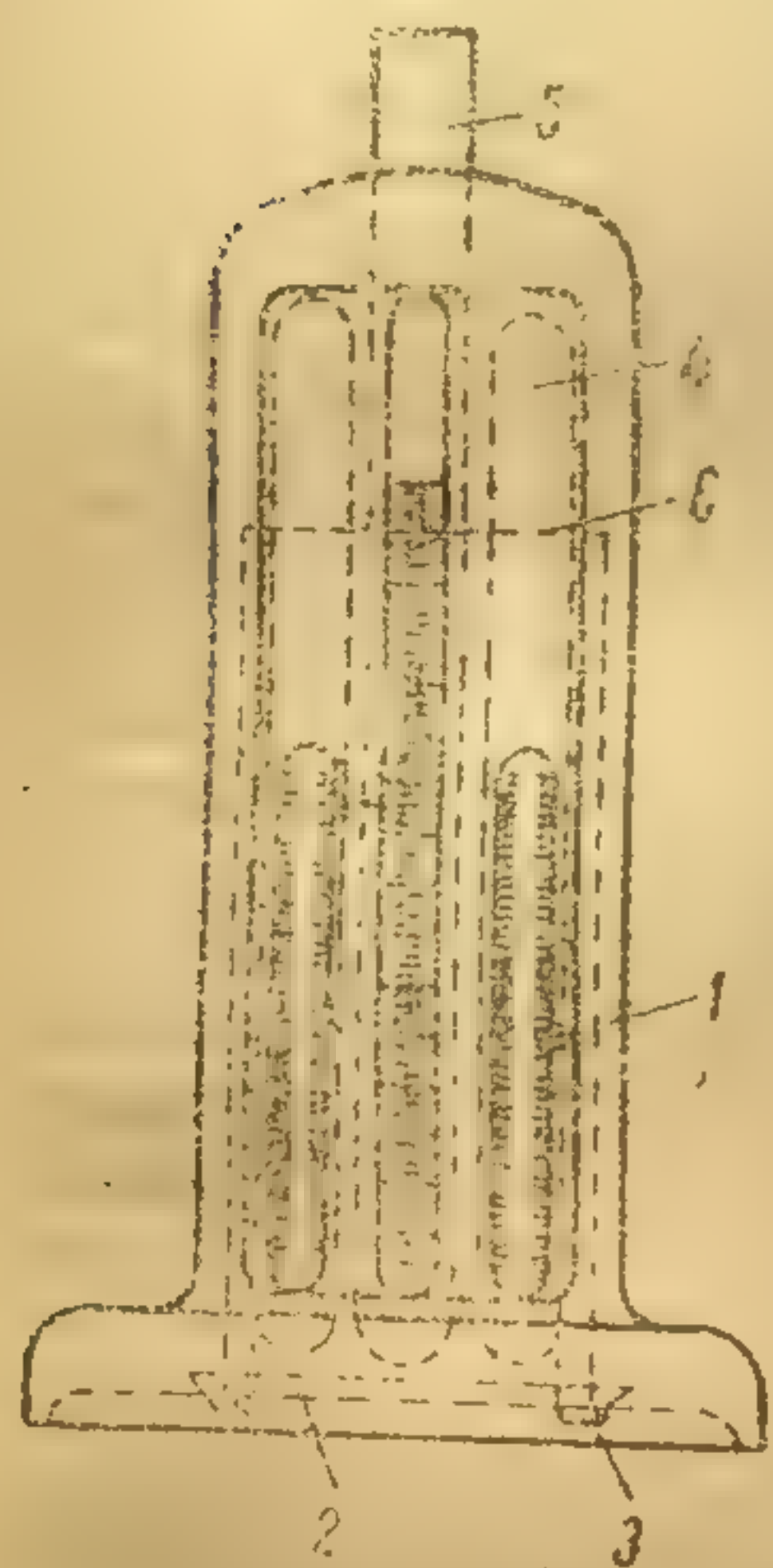


Рис. 60. Схема гемометра ГС-3

Измерительная градуированная пробирка и единицы исчисления гемоглобина. Градуированная пробирка гемометра имеет одну шкалу, которая показывает количество гемоглобина в граммах на 100 мл крови, т. е. концентрацию гемоглобина в грамм-процентах ($g\%$).

В ветеринарной и медицинской практике для обозначения количества гемоглобина крови употреблялись и до сих пор иногда употребляются так называемые «проценты» (%) гемоглобина или, как их еще называют, единицы гемоглобина. Однако грамм-процентное обозначение имеет большое преимущество перед старым обозначением, так как дает реальную количественную величину концентрации гемоглобина подобно другим химическим исследованиям крови, например, содержание белка в сыворотке крови, исчисляемое в $g\%$, сахара, кальция — в $mg\%$, и т. д.

При старом, «процентном», исчислении количество гемоглобина обозначалось в процентах от какой-то заранее выбранной условной «нормы» концентрации гемоглобина, которая принималась за 100% гемоглобина крови, что не отвечало действительности и приводило к путанице.

В гемометре типа ГС-3 за 100% принято 16,67 $g\%$. Если желательнее грамм-проценты гемоглобина перевести в употребляющиеся иногда и сейчас «проценты» (единицы гемоглобина), необходимо показания данного гемометра в грамм-процентах умножить на 6, т. е. $100 : 16,67 = 6$.

Пересчет с одного исчисления на другое очень прост. Например: $15 g\% \times 6 = 90$ ед.; 75 ед. : $6 = 12,5 g\%$.

Ход определения. В градуированную пробирку гемометра наливают до нижней метки с цифрой 2 $g\%$ 0,1 н соляную кислоту. Затем в капиллярную пипетку насасывают до черты 20 мл крови животного. Кончик пипетки тщательно вытирают ваткой для удаления приставшей снаружи крови. Еще раз проверив, точно ли до метки взята кровь, ее выпускают в кислоту, коснувшись кончиком пипетки поверхности жидкости. Кровь падает на дно, а верхний слой жидкости остается прозрачным. Для того чтобы в раствор не попал воздух, кровь выдувают в кислоту не всю, а оставляют в пипетке столбик около 1 мл. Пипетку удаляют из жидкости и оставшуюся кровь выдувают на стенку пробирки, откуда ее легко смыть, слегка наклонив пробирку.

Кровь в пробирке тщательно перемешивают с кислотой, придерживая пробирку за верхнюю часть двумя пальцами и слегка ударяя по ее нижней части пальцем другой руки. Это продолжается 5 мин., после чего в пробирку до тех пор прибавляют дистиллированную воду, пока окраска разбавленной крови (точнее раствора гемоглобина) не станет одинаковой с окраской стандартного раствора гемоглобина в запаянной пробирке. Сначала приливают сразу некоторое количество воды, перемешива-

ют раствор указанным выше способом и сравнивают со стандартной пробиркой. В дальнейшем, когда окраска раствора крови уже приближается к стандарту, смешивание и сравнение повторяют после прибавления каждой 1—2 капель воды. Раствор перемешивают, не касаясь дна прибора, тонкой стеклянной палочкой с закруглением на конце, причем каждый раз после перемешивания дают жидкости стечь с палочки в пробирку.

По нижнему мениску отмечают, на каком делении находится уровень жидкости в пробирке. Эта цифра указывает на содержание гемоглобина соответственно делению в грамм-процентах или в процентах-единицах.

Цвета жидкостей стандартов и пробирки сравнивают при дневном свете, держа пробирки в вытянутой руке против окна (при искусственном освещении получаются неправильные результаты).

В случае образования пены прибавляют одну-две капли серного эфира и отсчитывают показание по мениску под слоем эфира.

Геометр следует хранить в футляре, чтобы предохранить стандарты от выцветания.

Содержание гемоглобина в крови здоровых животных

Вид животного	Предельные колебания гемоглобина (в процентах по Сали)	Среднее содержание гемоглобина	В 100 мл крови гемоглобина, г	Фамилия автора
Крупный рогатый скот	55—74	65	11,0	Д. В. Соколов
Лошадь	50—110	80	13,6	С. А. Хрусталев и В. П. Сидоров
Верблюд	72—105	85	14,4	Н. Р. Семушкин
Буйвол	28—70	49	8,3	А. М. Колесов
Як	36—78	57	9,6	П. А. Карасев
Северный олень	48—60	54	9,1	В. С. Федотов
Коза	45—81	63	10,7	В. Г. Чагин
Овца	54—80	68	11,6	Л. А. Лебедев
Свинья	51—69	66	10,2	С. И. Смирнов
Кошка	47—83	65	11,0	Баранов
Собака	65—95	80	13,6	Ф. Михайлов
Кролик	51—87	69	11,7	А. В. Васильев
Курица	51—99	75	12,7	В. И. Зайцев
Утка	63—95	80	13,6	Преображенский
Гусь	80—110	95	16,1	С. З. Веремейчик
Голубь	74—106	90	15,3	О. Левкович

Продолжение

Вид животного	Предельные колебания гемоглобина (в процентах по Сали)	Среднее содержание гемоглобина	В 100 мл крови гемоглобина, г	Фамилия автора
Серебристо-черная лисица	66—109	83	14,2	Л. Г. Уткин
Песец	53—100	84	14,28	"
Норка	78—115	99	16,8	"
Соболь	75—113	88	15,0	"
Куница	73—117	79	15,1	"
Морская свинка	90—112	100	17,0	Д. Я. Криницин
Крыса	90—130	105	17,85	В. Покровский
Мышь	95—110	102	17,34	А. И. Метелкин

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА И ЕГО ФРАКЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Принцип метода. Определение основано на том, что показатель преломления сыворотки крови, зависит от содержания в ней белковых веществ. Для определения альбуминов глобулины осаждают полунасыщенным раствором сернокислого аммония и затем измеряют показатель преломления раствора, по которому в специальных таблицах находят содержание альбумина (в %). Для нахождения глобулинов из показателя преломления цельной сыворотки вычитают показатель преломления небелковых веществ. Полученную разность делят на 0,00229 (показатель преломления 1%-ного раствора глобулина) и получают содержание глобулина в процентах. Общее количество белка в сыворотке крови (в %) равно сумме альбуминов и глобулинов.

Описание определения дано применительно к рефрактометру ИРФ-22 (типа Аббе).

А. Настройка и проверка рефрактометра. 1. На поверхность нижней (измерительной) призмы стеклянной палочкой в центр наносят каплю дистиллированной воды и осторожно закрывают верхней (откидной) призмой (см. инструкцию к рефрактометру ИРФ-22).

2. Вращая ручку измерительной головки, совмещают границу света и тени с перекрестием поля зрения. Если при этом наблюдается радужная окраска, ее устраняют вращением дисперсионного компенсатора. Затем отсчитывают показатель пре-

ломления по шкале. Для воды он должен быть равен 1,3330. Если этого не наблюдается, поворотом ручки измерительного блока индекс шкалы устанавливают на показатель преломления 1,3330, а перекрестие нитей наводят точно на границу света и тени с помощью специального ключа.

3. Открыв верхнюю призму, удаляют остатки воды с обеих призм фильтровальной бумагой до получения чистой зеркальной поверхности нижней призмы и опускают верхнюю призму. Теперь прибор подготовлен к измерениям.

Б. Ход определения. 1. К сыворотке крови прибавляют насыщенный раствор сернокислого аммония в соотношении 1:1, смесь центрифугируют в течение 8—10 мин. Центрифужные пробирки должны быть закрыты резиновыми пробками во избежание испарения воды, которое может привести к завышенным данным. Для анализа достаточно 0,2—0,5 мл сыворотки.

После центрифугирования на дне пробирки в осадке находятся глобулины, а над ними — прозрачная жидкость, содержащая альбумины и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

2. На нижнюю поверхность (в центр) измерительной призмы рефрактометра стеклянной палочкой наносят каплю полученного центрифугата и закрывают верхней призмой.

3. Поворотом ручки измерительного блока совмещают перекрестие нитей с границей света и тени и на шкале учитывают значение показателя преломления (n_1). Если граница света и тени имеет радужную окраску, ее устраняют вращением ручки дисперсионного компенсатора.

4. После этого таким же образом измеряют показатель преломления цельной сыворотки крови (n_2).

5. По показателю преломления центрифугата в таблице 2 находят содержание альбуминов (в %) в исследуемой пробе и в той же строке, двигаясь направо, ищут показатель преломления дистиллированной воды, альбуминов и небелковых веществ.

6. Содержание глобулинов определяют расчетом. Для этого из показателя преломления цельной сыворотки крови (n_2) вычитают показатель преломления дистиллированной воды, альбуминов и небелковых веществ (n_3). Полученную разность делят на 0,00229 (показатель 1%-ного раствора глобулинов) и получают процент содержания глобулинов.

7. Общее содержание белка (в %) в исследуемой сыворотке крови находят суммированием найденных количеств альбуминов и глобулинов.

Пример расчета. Измеренный на рефрактометре показатель преломления центрифугата $n_1 = 1,3765$, показатель преломления цельной сыворотки крови $n_2 = 1,35046$, найденный по

таблице показатель преломления дистиллированной воды, альбуминов и небелковых веществ $n_3 = 1,3450$. Найти количества альбуминов, глобулинов и общее содержание белка в исследуемой пробе сыворотки крови.

Содержание альбуминов находим в таблице 2. По показателю преломления $n_1 = 1,3765$ оно оказывается равным 5,22%. Для нахождения содержания глобулинов из показателя преломления цельной сыворотки крови n_2 вычитаем показатель преломления дистиллированной воды, альбуминов и небелковых веществ n_1 : $1,35049 - 1,3450 = 0,00549$. Полученную разность делим на 0,00229 и получаем содержание альбуминов (в %) $\frac{0,00549}{0,00229} = 2,38\%$.

Общее содержание белка: $5,22 + 2,38 = 7,6\%$.

В связи с тем, что шкала показателей преломления рефрактометра ИРФ-22 дает значения с четырьмя знаками, а пятый знак получился приближенно, в таблице 1 против значений n , полученных на ИРФ-22, приведены более точные величины с шестью знаками, полученные на рефрактометре РЛ. Например, приближенному значению 1,3465 отвечает более точное значение 1,34646.

Реактивы. 1. Аммоний сернокислый $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, насыщенный раствор. 80 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ растворяют в 100 мл горячей дистиллированной воды, фильтруют и для перенасыщения колбу с раствором ставят на 15—20 мин. в воду, температура которой равна 20° . Берут 5 мл раствора, прибавляют 5 мл дистиллированной воды (собственно приготавливают полунасыщенный раствор) и измеряют его показатель преломления, который должен быть равен 1,370. Если такого значения не получается, насыщенный раствор следует приготовить заново.

Примерные нормы содержания белка в сыворотке крови животных по Вельшу¹ (%):

коровы	7,8	лошади	7,8
свиньи	8,0	кролики	6,6
овцы	7,3	куры	6,0
козы	7,7		

Общее содержание белка определяется суммой количеств альбуминов и глобулинов в %:

Отношение содержания альбуминов к содержанию глобулинов называется белковым коэффициентом $K = \frac{A}{G}$. При нормальном физиологическом состоянии животных значение белкового коэффициента составляет 1,4—2,0. Повышение количества

¹ Данные взяты из книги С. И. Афонского «Биохимия животных». «Высшая школа», 1960.

глобулинов наблюдается при инфекционных заболеваниях и пневмониях. Уменьшение содержания белка в сыворотке крови и особенно альбуминов наблюдается при дистрофии. Увеличение количества глобулинов и уменьшение количества альбуминов у больных животных соответствует реакции оседания эритроцитов (РОЭ).

Т а б л и ц а 1
Перевод показаний шкалы рефрактометра ИРФ-22
на показания шкалы рефрактометра типа РЛ

ИРФ-22	РЛ	ИРФ-22	РЛ
1,3330	1,33300	1,3505	1,35046
1,3335	1,33343	1,3510	1,35092
1,3340	1,33386	1,3515	1,35145
1,3345	1,33428	1,3520	1,35200
		1,3525	1,35243
1,3350	1,33471	1,3530	1,35286
1,3355	1,33515	1,3535	1,35333
1,3360	1,33575	1,3540	1,35383
1,3365	1,33619	1,3545	1,35443
		1,3550	1,35500
1,3370	1,33679	1,3555	1,35550
1,3375	1,33723	1,3560	1,35600
1,3380	1,33783	1,3565	1,35646
1,3385	1,33843	1,3570	1,35692
1,3390	1,33887	1,3575	1,35739
		1,3580	1,35784
1,3395	1,33931	1,3585	1,35833
1,3400	1,33991	1,3590	1,35883
1,3405	1,34051	1,3595	1,35933
1,3410	1,34095	1,3600	1,35987
1,3415	1,34114	1,3605	1,36054
1,3420	1,34157	1,3610	1,36123
1,3425	1,34200	1,3615	1,36160
1,3430	1,34243	1,3620	1,36233
1,3435	1,34300	1,3625	1,36267
1,3440	1,34357		
		1,3630	1,36320
1,3445	1,34415	1,3635	1,36380
1,3450	1,34477	1,3640	1,36428
1,3455	1,34538	1,3645	1,36471
		1,3650	1,36517
1,3460	1,34600	1,3655	1,36567
1,3465	1,34646	1,3660	1,36618
1,3470	1,34692		
1,3475	1,34738	1,3665	1,36673
1,3480	1,34784	1,3670	1,36723
1,3485	1,34843	1,3675	1,36769
1,3490	1,34900	1,3680	1,36820
1,3495	1,34950	1,3685	1,36880
1,3500	1,35000	1,3690	1,36924
		1,3700	1,37028
		1,3710	1,37135

Определение альбуминов и подсчет глобулинов сыворотки крови

Коэффициент преломления центрифугата сыворотки крови по ИРФ-22	альбу-минов	Коэффициент преломления дистиллированной воды, альбуминов и небелковых тел по РЛ	Коэффициент преломления центрифугата сыворотки крови по ИРФ-22	альбу-минов	Коэффициент преломления дистиллированной воды, альбуминов и небелковых тел по РЛ
1,3720	0,22	1,33632	1,3790	7,85	1,34966
1,3725	0,90	1,33738	1,3795	8,61	1,35100
1,3730	1,46	1,33834	1,3800	9,17	1,35200
1,3735	2,02	1,33934	1,3805	9,78	1,35308
1,3740	2,40	1,34000	1,3810	10,41	1,35418
1,3745	2,84	1,34080	1,3815	10,84	1,35500
1,3750	3,52	1,34200	1,3820	11,41	1,35596
1,3755	4,09	1,34300	1,3825	11,87	1,35654
1,3760	4,65	1,34400	1,3830	12,46	1,35782
1,3765	5,22	1,34500	1,3835	13,07	1,35890
1,3770	5,59	1,34566	1,3840	13,69	1,3600
1,3775	6,01	1,34640	1,3845	14,30	1,36108
1,3780	6,69	1,34760	1,3850	14,93	1,36218
1,3785	7,29	1,34866			

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В КРОВИ

Интенсивность образования нуклеиновых кислот в организме зависит от уровня белкового питания. Определение суммы нуклеиновых кислот — дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой — дает возможность производить весьма точные серийные определения в небольших количествах крови (методики разработаны А. С. Спириным) с использованием спектрофотометрии при 270—290 $m\mu$ (ультрафиолетовая часть спектра) после удаления белков при помощи соляной кислоты.

Спектрофотометрические измерения производятся с помощью спектрофотометра Бекмана, а также прибора отечественного производства СФ-4.

Ход определения. 0,1 мл крови размешивают в 1,4 мл воды. К полученному гемолизату прибавляют 13,5 мл 0,6 н раствора соляной кислоты (для этого лучше применять широкие центрифужные пробирки на 30—40 мл). Перемешав смесь, пробирку помещают на 20 мин. в сильно кипящую водяную баню и закрывают маленькой воронкой. За это время происходит полный гидролиз нуклеиновых кислот, связанных с белками, и осаждение всех белков.

Пробирку с смесью охлаждают под краном, затем центрифугируют 10—15 мин. при 1500 оборотах в минуту. Жидкость сливают в чистую пробирку и фотометрируют при 270—290 $m\mu$ в

кювета диаметром 1 см. Записывают часовые показатели промеров и из числа, полученного при 270 *mμ*, вычитают полученное при 290 *mμ*. Разность делят на эмпирический коэффициент 0,19 (согласно рекомендации А. С. Спирина). Частное от деления показывает количество фосфора в гаммах при разведении 0,1 мл крови в 150 раз.

Для нахождения фосфора в 100 мл крови надо увеличить число в 100 раз. Чтобы вычислить содержание нуклеиновых кислот, полученное количество фосфора умножается на коэффициент 10,3 (А. Н. Белозерский и Н. И. Проскуряков, 1951).

Таким образом, подсчет нуклеиновых кислот ведется по следующей формуле:

$$x = \frac{(A - B) \cdot 15 \cdot 1000 \cdot 10,3}{0,19 \cdot 0,1},$$

где *A* — число, полученное при измерении раствора при 270 *mμ*;
B — при 290 *mμ*.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРОТИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

0,2 мл самой свежей сыворотки крови помещают в сухую пробирку и приливают туда 4 мл 96°-ного спирта. Содержимое пробирки тщательно перемешивают энергичным взбалтыванием или стеклянной палочкой.

В пробирку приливают 2 мл петролейного эфира или — при отсутствии его — чистого бензина с температурой кипения ниже 76° (такой отгон бензина можно получить из любой партии, используя холодильник Либиха и контролируя по термометру).

Содержимое пробирки хорошо перемешивают и оставляют на несколько минут в покое. Затем в нее по каплям приливают из пипетки 1,5—2 мл дистиллированной воды, при этом происходит разделение эфирного (бензинового) и спиртового слоев. Каротин экстрагируется эфиром и окрашивает верхний слой в желто-зеленоватый цвет.

Градуированной пипеткой на 1 мл берут из верхнего эфирного слоя определенный объем, по каплям испаряют его на дне фарфоровой выпарительной чашечки или палетки. Для ускорения чашечку необходимо подогревать, капли опускать на одно и то же место, пока на дне чашечки появится едва заметное желтоватое колечко. Это колечко состоит из каротина и появляется после того, как в испарившемся эфирном экстракте его будет содержаться 0,04 гаммы (0,00004 мг).

Содержание каротина в 100 мл сыворотки в мг% вычисляют по следующей формуле:

$$x = \frac{0,04 \cdot 2 \cdot 100}{K \cdot 0,2 \cdot 1000},$$

Расчеты

Испарившегося каротина и в не- продержанном эфире (мг)	Каротин (мг)
0,01	4,00
0,02	2,00
0,03	1,33
0,04	1,00
0,05	0,80
0,06	0,67
0,07	0,57
0,08	0,50
0,09	0,44
0,10	0,40
0,11	0,37
0,12	0,33
0,13	0,31
0,14	0,29
0,15	0,27
0,16	0,25
0,17	0,24
0,18	0,22
0,19	0,21
0,20	0,20
0,21	0,19
0,22	0,18
0,23	0,17
0,24	0,16
0,25	0,15
0,26	0,14
0,27	0,13
0,28	0,12
0,29	0,11
0,30	0,10
0,31	0,09
0,32	0,08
0,33	0,07
0,34	0,06
0,35	0,05
0,36	0,04
0,37	0,03
0,38	0,02
0,39	0,01
0,40	0,00

где x — содержание каротина в 100 мл сыворотки в мг%;
 0,04 — содержание каротина в испарившемся количестве сыворотки в микрограммах;
 2 — количество эфирного (бензинового) экстракта, мл;
 K — количество испарившегося эфирного экстракта (мл) до получения желтоватого кольца на дне чашечки;
 0,2 — количество испытуемой сыворотки;
 100 — приведение содержания каротина в 100 мл сыворотки;
 1000 — перевод гамм в миллиграммы.

Расчеты содержания каротина в сыворотке крови животных

Испарившегося бензина или петролейного эфира (мл)	Каротина (мг %)	Испарившегося бензина или петролейного эфира (мл)	Каротина (мг %)	Испарившегося бензина или петролейного эфира (мл)	Каротина (мг %)	Испарившегося бензина или петролейного эфира (мл)	Каротина (мг %)
0,01	4,000	0,33	0,121	0,65	0,061	0,97	0,0417
0,02	2,000	0,34	0,117	0,66	0,06	0,98	0,0414
0,03	1,333	0,35	0,114	0,67	0,06	0,99	0,0406
0,04	0,000	0,36	0,111	0,68	0,059	1,00	0,0400
0,05	1,800	0,37	0,108	0,69	0,058	1,01	0,0396
0,06	0,666	0,38	0,105	0,70	0,057	1,02	0,0392
0,07	0,571	0,39	0,102	0,71	0,056	1,03	0,0388
0,08	0,520	0,40	0,100	0,72	0,055	1,04	0,0384
0,09	0,441	0,41	0,097	0,73	0,055	1,05	0,0380
0,10	0,400	0,42	0,095	0,74	0,054	1,06	0,0377
0,11	0,374	0,43	0,093	0,75	0,053	1,07	0,0373
0,12	0,333	0,44	0,091	0,76	0,052	1,08	0,0370
0,13	0,307	0,45	0,089	0,77	0,051	1,09	0,0366
0,14	0,285	0,46	0,087	0,78	0,051	1,10	0,0363
0,15	0,266	0,47	0,085	0,79	0,051	1,11	0,0360
0,16	0,250	0,48	0,083	0,80	0,051	1,12	0,0357
0,17	0,235	0,49	0,081	0,81	0,050	1,13	0,0353
0,18	0,222	0,50	0,080	0,82	0,0486	1,14	0,0350
0,19	0,210	0,51	0,078	0,83	0,0483	1,15	0,0348
0,20	0,200	0,52	0,077	0,84	0,0476	1,16	0,0344
0,21	0,190	0,53	0,075	0,85	0,0471	1,17	0,0340
0,22	0,182	0,54	0,074	0,86	0,0465	1,18	0,0338
0,23	0,174	0,55	0,073	0,87	0,0460	1,19	0,0335
0,24	0,167	0,56	0,071	0,88	0,0454	1,20	0,0333
0,25	0,160	0,57	0,070	0,89	0,0448	1,12	0,0330
0,26	0,154	0,58	0,069	0,90	0,0440	1,22	0,0328
0,27	0,148	0,59	0,068	0,91	0,0438	1,23	0,0325
0,28	0,143	0,60	0,066	0,92	0,0435	1,24	0,0320
0,29	0,138	0,61	0,065	0,93	0,0432	1,25	0,0320
0,30	0,133	0,62	0,063	0,94	0,0426	1,26	0,0315
0,31	0,129	0,63	0,063	0,95	0,0421	1,27	0,0314
0,32	0,125	0,64	0,062	0,96	0,042	1,28	0,0313

Продолжение

Испарившегося бензина или петролейного эфира (мл)	Каротина (мг %)	Испарившегося бензина или петролейного эфира (мл)	Каротина (мг %)	Испарившегося бензина или петролейного эфира (мл)	Каротина (мг %)	Испарившегося бензина или петролейного эфира (мл)	Каротина (мг %)
1,29	0,0311	1,35	0,0296	1,41	0,0283	1,47	0,0273
1,30	0,0308	1,36	0,0296	1,42	0,0282	1,48	0,0272
1,31	0,0306	1,37	0,0294	1,43	0,0279	1,49	0,0271
1,32	0,0303	1,38	0,0289	1,44	0,0277	1,50	0,0266
1,33	0,0300	1,39	0,0289	1,45	0,0275		
1,34	0,0297	1,40	0,0286	1,46	0,0273		

Для вычисления содержания каротина можно пользоваться разработанной П. Т. Лебедевым шкалой расчетов содержания каротина в сыворотке крови животных.

Методика эта сравнительно точная, с ее помощью можно обнаруживать каротин в сыворотке крови животных при содержании его в минимальных количествах (0,02—0,025 мг %).

В сыворотке крови крупного рогатого скота и лошадей содержание каротина колеблется прежде всего в зависимости от сезона года и типа кормления. Так, например, летом, когда животным дают зеленую подкормку, количество каротина в сыворотке крови в 8 с лишним раз больше, чем при содержании на рационах с небольшими дачами сена и силоса в зимний стойловый период.

Значительно снижается количество каротина в сыворотке крови к концу стойлового периода. Кроме того, на содержание каротина в сыворотке крови оказывают влияние возраст и порода животных.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА А В ОРГАНАХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Витамин А — $C_{20}H_{30}O$, мол. вес $M=286,46$.

Принцип определения. Витамин А из молока, жира, печени и крови переводится в неомыляемую фракцию, растворяется в хлороформе, подвергается воздействию хлороформенного раствора треххлористой сурьмы и колориметрируется по синей окраске со стандартным раствором метиленблау.

Оборудование. Роговые весы, мерные пипетки на 1—2—5 мл, колбы на 200—500 мл, водяная баня, делительные воронки на 200—500 мл, аппарат Киппа для получения углекислоты, мерные колбы на 50—100—250 мл, микропипетки, набор одинаковых небольших пробирок в штативе, эксикатор.

Реактивы. 40%-ный водный раствор химически чистого едкого калия, 95%-ный спирт, серный эфир, очищенный от пере-

киси, бидистиллированная вода, синие и красные лакмусовые бумажки, обезвоженный сернокислый натрий, сухой наркотный хлороформ, 22%-ный раствор треххлористой сурьмы в хлороформе, раствор 0,1 г метиленовой синьки в 1 л воды, уксусный ангидрид, кусочки мрамора, серная кислота, 10%-ный водный раствор закисного железа, 5%-ный водный раствор химически чистого едкого калия.

Раствор треххлористой сурьмы в хлороформе готовят следующим образом. Кристаллы в чашке Петри обмывают небольшим количеством наркотного хлороформа и высушивают на эксикаторе. Затем быстро отвешивают около 25 г высушенной треххлористой сурьмы, переносят в склянку желтого цвета, приливают 100 мл наркотного хлороформа, тщательно перемешивают раствор и дают отстояться. На дне склянки должны остаться кристаллы нерастворившейся треххлористой сурьмы. Раствор треххлористой сурьмы будет иметь концентрацию около 21—23%.

Серный эфир от перекиси очищают следующим образом. Смешивают равные объемы 10%-ного водного раствора закисного железа (FeSO_4) и 5%-ного водного раствора едкого калия (КОН). При тщательном взбалтывании получается суспензия гидрата закиси железа, которую и используют для очистки эфира.

На 100 мл эфира берут 10 мл суспензии, тщательно взболтанной перед отмериванием. Эфир и суспензию наливают в делительную воронку и энергично встряхивают в течение 5 мин., держа ее за нижний конец и пробку. Смеси дают отстояться, сливают нижний водный слой и промывают эфир 2—3 раза небольшими (15—20 мл) порциями нейтральной дистиллированной воды, пока выливаемый нижний слой воды не будет давать щелочную реакцию. Эфир переливают в колбу, на дно которой кладут несколько кусочков сухого хлористого кальция. Если он расплывается на дне колбы, добавляют еще несколько кусочков. Затем эфир сливают через фильтр в склянку с притертой пробкой и хранят в прохладном темном месте.

Ход определения. На роговых весах отвешивают от 5 до 10 г печени и переносят в колбу на 200 мл. При исследовании молока и молозива их берут от 50 до 200 мл (в зависимости от предполагаемого содержания витамина А), крови — от 20 до 40 мл.

В колбу приливают 20—30 мл 40%-ного водного раствора едкого калия (КОН) и затем производят омыление на водяной бане в течение 60—90 мин., добавляя в колбу 5—10 мл 96%-ного спирта, после чего переливают жидкость в делительную воронку емкостью 250—500 мл, колбу ополаскивают 20—30 мл дистиллированной воды, а затем 40—50 мл очищенного серного эфира, и все сливают в делительную воронку.

Закрывают воронку пробкой и, осторожно наклоняя вправо и влево, перемешивают содержимое; если образовалась

эмульсия, добавляют 1—2 мл 96%-ного спирта. Затем ставят воронку в зажим чугунного штатива и дают смеси отстояться до разделения слоев (примерно 20—30 мин.).

Во вторую делительную воронку спускают через нижний кран из первой делительной воронки водно-щелочной слой, добавляют 25—30 мл серного эфира и вновь извлекают неомыленные фракции. Сливают также водно-щелочной слой.

Эфирные экстракты сливают в одну делительную воронку (обычно в первую) и промывают их 2—3 раза дистиллированной водой до исчезновения щелочной реакции промывных вод.

Эфирную вытяжку сливают в колбу, добавляют туда обезвоженного сернистого натрия и, присоединив колбу к аппарату Киппа (в пробке 2 отверстия), отгоняют эфир на водяной бане под током углекислоты. Углекислота в аппарате Киппа образуется при взаимодействии соляной кислоты с мрамором.

Оставшийся на дне колбы сухой остаток неомыляемой фракции растворяют в 1 мл сухого хлороформа и переливают в центрифужную пробирку, калиброванную на 1,5 мл. Затем доливают хлороформ до метки. Пробирку закрывают хорошо пригнанной пробкой и хранят в темном прохладном месте. Лучше колориметрировать сразу.

Колориметрирование. Предварительно готовят колориметрическую шкалу — 15 одинаковых по диаметру небольших пробирок, 14 разведений раствора метиленовой синьки по прописи:

Номера пробирок	Раствор метиленовой синьки 0,1 г на 1000 мл	Дистиллированной воды (мл)	Синих единиц
1	1	9	9,5
2	1	10	9,0
3	1	11	8,2
4	1	12	7,7
5	1	13	7,2
6	1	14	6,7
7	1	15	6,2
8	1	16	5,8
9	1	17	5,2
10	1	18	5,0
11	1	19	4,5
12	1	20	4,2
13	1	26	3,5
14	1	30	2,9

Из пробирки с основным разведением витамина А в хлороформе берут микропипеткой 0,2 мл в пробирку № 15 и добавляют туда 2 мл 21—23%-ного раствора треххлористой сурьмы в хлороформе. Если синяя окраска будет мутная, то добавляют в пробирку 1—2 капли уксусного ангидрида. Эту пробирку по окраске очень быстро сравнивают со стандартными пробирками и

подбирают наиболее близкую. Колориметрирование надо производить в течение 10 - 15 сек., пользуясь специальной шкалой (рис. 61).

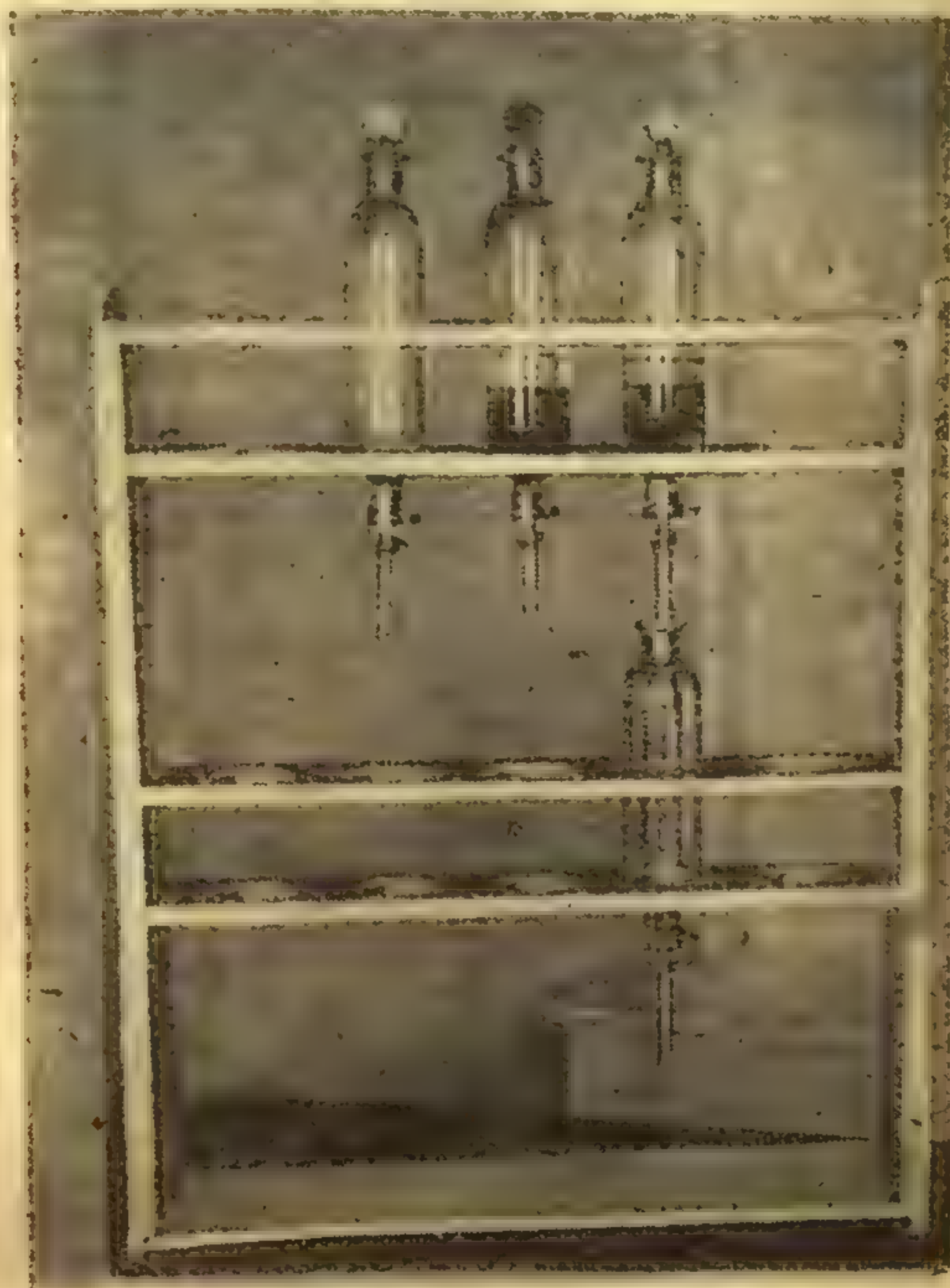


Рис. 61. Экстрагирование витамина А

Содержание витамина А в исследуемом материале в мг% вычисляют по формуле:

$$a = \frac{b \cdot v}{4 \cdot g},$$

где b — число синих единиц той пробирки, цвет которой наиболее похож на окраску жидкости в пробирке 15;
 v — объем раствора неомыляемой фракции в хлороформе (1,5 мл);
 g — навеска исследуемого вещества, г, мл;
 4 — постоянный коэффициент.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С И НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФОРА ПЛАЗМЫ КРОВИ В ОДНОЙ ПРОБИРКЕ¹

Реактивы. Для определения витамина С по методу, основанному на восстановлении йодноватокислого калия аскорбиновой кислотой, требуются следующие реактивы:

1. 10%-ный раствор трихлоруксусной кислоты;
2. 2%-ный раствор йодистого калия;
3. 1%-ный раствор крахмала;
4. 0,001 н раствор йодноватокислого калия KJO_3 приготовленный из 0,1 н раствора;
5. 1,34%-ный раствор щавелевокислого натрия.

Определение неорганического фосфора по методу Аммона и Глызберга основано на восстановлении фосфорномолибденовой кислоты в молибденовую синь; в качестве редуцирующего агента употребляют аскорбиновую кислоту. Для опыта требуются следующие реактивы:

1. 2,5%-ный раствор молибденовокислого аммония в 5 н растворе серной кислоты. Для его приготовления используют равные количества:

а) 5%-ного раствора молибденовокислого аммония; 5 г молибдата аммония растворяют в 100 мл дистиллированной воды; для лучшего растворения молибдата прибавляют 1 мл аммиака (нашатырный спирт) и кипятят;

б) 10 н раствора серной кислоты. Его готовят из концентрированной серной кислоты: в колбочку на 100 мл наливают 50—60 мл дистиллированной воды и добавляют 27,8 мл концентрированной серной кислоты (уд. вес 1,84); когда колбочка остынет, доливают водой до метки.

2. Стандартный раствор фосфора: 0,1099 г химически чистого и высушенного до постоянного веса однозамещенного фосфорнокислого калия растворяют в 1 л дистиллированной воды. В 1 мл стандартного раствора содержится 0,025 мг фосфора.

Методика определения. В химическую пробирку наливают 0,5 мл 1,34%-ного раствора щавелевокислого натрия и до 8 мл крови из вены. Стеклой палочкой перемешивают и центрифугированием получают плазму. В пробирку с плазмой (лучше градуированную) прибавляют равное количество 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, смешивают стеклой палочкой, фильтруют через предварительно смоченный трихлоруксусной кислотой фильтр или центрифугируют. В градуированную или отмеренную на 10 мл пробирку наливают 2 мл фильтрата (центрифугата), 0,5 мл 2%-ного раствора йодистого калия и 1 каплю крахмала; титруют 0,001 н раствором йодноватокислого калия до появления бледно-синего окрашивания.

¹ Материал взят из статьи Е. Л. Яхонтовой, опубликованной в ж. «Лабораторное дело» 1962. № 1,

Параллельно ставят контрольный опыт: в пробирку наливают 1 мл трихлоруксусной кислоты, 1 мл дистиллированной воды, 0,5 мл 2%-ного раствора йодистого калия, 1 каплю крахмала и титруют так же, как и опытную пробу. При титровании приливают раствор KJO_3 , но не каплями, а по стенке пробирки по 0,01 мл из микробюретки или пипетки на 1 мл.

Из количества KJO_3 , израсходованного на титрование пробы крови, вычитают количество его, пошедшее на титрование контрольной пробы. Обычно на контрольную пробу берут 0,01—0,02 мл. Миллилитр 0,001 н раствора KJO_3 соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты.

Содержание витамина С определяют по формуле:

$$X = a \cdot 0,088 \cdot 100,$$

где a — количество KJO_3 , пошедшее на титрование пробы крови, минус количество его, пошедшее на титрование контрольной пробы, мл;

100 — коэффициент перевода.

В этой же пробирке определяют неорганический фосфор. Так как при определении витамина С раствор окрашен в слегка синий цвет, для обесцвечивания его приливают в обе пробирки (с пробой крови и в контрольную) по капле гипосульфита.

Определение витамина С в плазме крови

a	Витамин С	a	Витамин С
0,02	0,176	0,12	1,056
0,03	0,264	0,13	1,144
0,04	0,332	0,14	1,232
0,05	0,440	0,15	1,320
0,06	0,528	0,16	1,408
0,07	0,616	0,17	1,496
0,08	0,704	0,18	1,584
0,09	0,792	0,19	1,672
0,10	0,880	0,20	1,760
0,11	0,968		

В контрольную пробирку наливают 1 мл стандартного раствора фосфора, в обе пробирки (опыт и контроль) — по 1 мл растворов молибдата аммония и аскорбиновой кислоты, затем доливают дистиллированной водой до метки 10. Содержимое

пробирки синее, через 30 мин. проводят колориметрическое определение, например, в колориметре типа Дюбоска.

Содержание неорганического фосфора (мг%) определяют по формуле:

$$C_x = \frac{C_{ст} \cdot H_{ст} \cdot 100}{H_x}$$

где $C_{ст}$ — концентрация стандартного раствора;

$H_{ст}$ — высота слоя в стаканчике со стандартным раствором;

H_x — высота слоя в стаканчике с пробой крови.

При высоте слоя в стаканчике со стандартным раствором до метки 10 формула для расчета будет иметь следующий вид:

$$C_x = \frac{0,025 \cdot 10 \cdot 100}{H_x} = \frac{25}{H_x} \text{ мг \%}.$$

Для удобства расчета исходя из последнего уравнения составляют рабочую таблицу. В ней высчитывают величину C_x при значениях H_x начиная от 2 и до 22,8. Например, если $H_x = 2$, $C_x = 12,5$; $H_x = 2,1$, $C_x = 11,9$ и т. д.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С В ОРГАНАХ¹

$C_6H_8O_8$, мол. вес $M=176,13$ (аскорбиновая кислота).

Принцип метода. Извлечение витамина С из хорошо измельченной ткани смесью (в равных объемах) 8%-ной метафосфорной и 16%-ной трихлоруксусной кислот с последующим добавочным извлечением 5%-ной уксусной кислотой (общее число экстракции равно трем) и титрование экстракта 2,6 дихлорфенолиндифенолом.

Реактивы. 0,001 н разведенной вдвое раствор дихлорфенолиндифенола (реактив Тильманса); 8%-ный раствор метафосфорной кислоты; 16%-ный раствор трихлоруксусной кислоты; 5%-ный раствор уксусной кислоты (на 1 л воды берется 58,1 мл 90%-ной уксусной кислоты); насыщенный раствор щавелевокислого аммония или натрия; приблизительно 0,01 н раствор соли Мора; приблизительно 0,01 н раствор перманганата; х. ч. щавелевокислый натрий или аммоний; серная кислота с удельным весом 1,84, разведенная водой 1:2; 0,01%-ный раствор серной кислоты, 0,56 мл серной кислоты с удельным весом 1,84 на 1 л воды; бидистиллят; стеклянная пудра (из чистого лабораторного стекла):

Посуда. Микробюретка на 1—2 мл; бюретка на 25—50 мл; набор пипеток 0,5—10 мл; пипетка на 5 мл с делениями через 0,1; фарфоровые ступки — 5 шт. диаметром 10 см; маленькие бюксы вместимостью 20—25 мл — 10 шт.; стеклянные палочки;

¹ Метод применяется в витаминных лабораториях Института питания АМН СССР и на Государственной контрольной витаминной станции.

центрифужные стаканчики вместимостью 40—60 мл, диаметром 3 см — 10 шт.; мерные колбы на 25 и 50 мл — по 3 шт.; мерные цилиндры на 25 мл — 2 и на 250 мл — 1; воронки средние диаметром 8—10 см, воронки маленькие диаметром 3—7 см — 10 шт.; капельница; колбочки Эрленмейера вместимостью 100—200 мл — 6 шт.; пробирочки для титрования диаметром 1,4 см, длиной 5 см — 10—15 шт.; штативы деревянные для пробирочек, центрифужных стаканчиков; склянки для реактивов; фильтровальная бумага; аптекарские весы; разновесы; весы для центрифужных стаканчиков, аналитические весы.

Примечания: 1. Метафосфорная кислота при температуре 5° имеет срок годности две недели, при температуре 25° уже через 3 дня хранения около 20% ее может перейти в ортофосфорную.

2. При приготовлении стеклянной пудры стекло покрывают полотенцем, чтобы не поранить глаза.

Ход анализа. Отмеривают пипеткой и наливают в бюкс метафосфорную и трихлоруксусную кислоты в равных объемах. Взвешивают на аналитических весах бюкс с налитой смесью. Туда же кладут 2—3 г вырезанного органа (кусочки его) и также взвешивают. Содержимое бюкса переливают в ступку, в нее вносят 3—5 г¹ стеклянной пудры и все это тщательно растирают до получения совершенно однородной размельченной массы.

При растирании необходимо следить за тем, чтобы орган был покрыт жидкостью (для чего можно прибавить немного уксусной кислоты). Однако избыток жидкости мешает полному измельчению. Полученная взвесь переводится по стеклянной палочке в центрифужный стаканчик; бюкс ополаскивается уксусной кислотой, которая затем сливается в ступку; ступка ополаскивается налитой кислотой, жидкость сливается в центрифужный стаканчик; попутно ополаскивается и палочка.

Затем уравнивают центрифужные стаканчики на весах и центрифугируют экстракт до тех пор, пока получится немутный центрифугат; его осторожно сливают в мерную колбочку через маленькую воронку. Вся дальнейшая экстракция витамина ведется уже 5%-ной уксусной кислотой.

Так как общий объем экстракта должен быть равен 25 или 50 мл, то для дальнейших двух экстракций отмеривается мерным цилиндром соответствующее количество уксусной кислоты, которое и делится на две части. Уксусной кислотой, предназначенной для второй экстракции, ополаскиваются последовательно в несколько приемов бюкс, палочка и ступка. Вся жидкость каждый раз сливается в прежний центрифужный стаканчик, на дне которого находятся измельченный орган и стеклянная пудра.

Полученная взвесь взбалтывается несколько раз с помощью стеклянной палочки и вновь центрифугируется до получения немутного центрифугата. Его сливают в мерную колбу и делают

¹ 5 г берется при анализе мышц.

третью по счету экстракцию витамина С, которая идет так же, как описано выше. Жидкость в мерной колбочке доводится прибавляемой из капельницы уксусной кислотой до метки и хорошо смешивается.

В микробюретку наливают 0,001 н раствор дихлорфенолиндофенола, разведенный вдвое, а в маленькие пробирочки для титрования отмеривают 1—2 мл полученного экстракта. Дихлорфенолиндофенол прибавляется к экстракту по капле вместе с взбалтыванием жидкости в пробирочке. Концом реакции служит появление розового окрашивания, титрование повторяется трижды с новыми порциями экстракта. Расхождение в показаниях между отдельными титрованиями не должно превышать 0,02—0,03 мл.

Пример. Печень морской свинки весит 6,1 г; смесь центрифугатов доведена в мерной колбе до 50 мл, взято для титрования 2 мл. При титровании пошло в I раз — 0,63 мл, II—0,64, III — 0,62 мл индикатора, т. е. в среднем 0,63 мл.

Количество аскорбиновой кислоты с учетом того, что поправка (К) на титр краски для перевода ее на точно 0,001 н раствор равна 0,5 и 1 мл 0,001 н раствора реактива Тильманса соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты, вычисляется по следующей формуле:

$$X = \frac{0,63 \cdot 0,5 \cdot 50 \cdot 0,088 \cdot 100}{2 \cdot 6,1} = 11,4 \text{ мг \%}.$$

Приготовление раствора дихлорфенолиндофенола. Для приготовления 0,001 н раствора индикатора (его молекулярный вес равен 290, г/экв — 145), берут 0,2 г краски, растворяют их в 1 л воды¹, энергично взбалтывая (лучше оставить раствор на ночь); затем раствор фильтруется и доводится водой до 1 л. Раствор надо хранить в темном месте в склянке из темного стекла. Годится он не более чем на 7 дней, затем готовится свежий. Раствор получается не точно 0,001 н, и надо определить поправку для его перевода на 0,001 н. Так как титр меняется, то поправка должна определяться ежедневно.

Установка титра соли Мора. Для получения приблизительно 0,01 н раствора соли Мора навеску в 3,92 г соли растворяют в 1 л 0,01 %-ной серной кислоты. Титр соли Мора устанавливается по 0,01 н раствору марганцовокислого калия; на 10 мл соли Мора, наливаемой в колбочку Эрленмейера, приливается 1,5 мл серной кислоты (уд. вес 1,84, разводится водой в соотношении 1 : 2). Титрование заканчивают при появлении стойкого слабо-розового окрашивания раствора. Раствор соли Мора хранится в склянке из темного стекла. Титр его проверяют через 3—4 недели.

¹ Ввиду того, что титр индикатора проверяется ежедневно, нет надобности готовить его на буферном растворе.

Установка титра индикатора по соли Мора. Раствор дихлорфенолиндофенола ежедневно титруется по соли Мора известного титра: в колбочку Эрленмейера наливается 10 мл реактива Тильманса, а в бюретку — раствор соли Мора (приблизительно 0,01 н), титр которого известен; к краске прибавляется 5 мл насыщенного раствора щавелевокислого аммония (в его присутствии реакция идет до конца, но сам он не вступает в реакцию). Титрование считается законченным, когда голубой цвет индикатора сменится на соломенно-желтый¹.

Установка титра марганцовокислого калия. Титр 0,01 н марганцовокислого калия, получающегося разведением приблизительно децинормального раствора перманганата, хранящегося в лаборатории, устанавливается по точной навеске щавелевокислого натрия или аммония.

Для получения децинормального раствора перманганата в 1 л воды растворяется 3,16 г KMnO_4 ; вначале раствор меняет свой титр, поэтому его следует выдержать до употребления 10—14 дней; сохраняется в склянке из темного стекла.

На аналитических весах отвешивается 0,067 г щавелевокислого натра. Эта соль очень гигроскопична, поэтому перед взятием навески она оставляется на несколько часов в открытом бюксе над серной кислотой в эксикаторе; затем навеску растворяют в 100 мл дважды перегнанной воды в мерной колбе, т. е. готовится точный 0,01 н раствор щавелевокислого натра. Этот раствор употребляется свежим и не хранится.

Навеска щавелевокислого аммония для приготовления 0,01 н раствора равна 0,062 г.

Титрование марганцовокислым калием идет при прибавлении к 10 мл раствора щавелевокислого натра 2,5 мл серной кислоты (уд. вес 1,84, разведение 1 : 2), причем колбочка с раствором щавелевокислого натра нагревается на водяной бане до температуры, близкой к кипению (не следует допускать кипения).

На конец реакции указывает слабо-розовая окраска. Титр марганцовокислого калия устанавливается не менее чем на двух навесках щавелевокислого натра и аммония и проверяется также через 3—4 недели.

Вычисление поправки на титр индикатора. Поправка на титр краски (индикатора) вычисляется по формуле:

$$x = \frac{a \cdot b}{c},$$

где a — количество соли Мора, пошедшее при титровании на 10 мл данного раствора индикатора, мл;

b — количество раствора марганцовокислого калия, израсходованное при титровании на 10 мл соли Мора, мл;

¹ Нерезкое изменение окраски указывает на порчу реактива.

c — количество марганцовокислого калия, пошедшее на титрование 10 мл точного 0,01 н раствора щавелевокислого натра, мл.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА Е ХИМИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Принцип метода. Основой для химических методов определения витамина Е (в виде суммы токоферолов) послужила способность токоферолов давать при окислении в определенных условиях окрашенные продукты реакции.

Азотнокислый метод основан на колориметрическом измерении интенсивности красной окраски, возникающей при окислении токоферолов азотной кислотой в спиртовом растворе.

При определении витамина Е в масляных и спиртовых препаратах последние подвергают сначала щелочному гидролизу. Из гидролиза витамин Е извлекают серным эфиром, который затем удаляется в токе CO_2 . Полученный сухой остаток растворяют в абсолютном спирте и проводят определение витамина Е по реакции с азотной кислотой в вертикальном фотометре типа ФМ-56.

Определение токоферолов в масляных и спиртово-сахарных препаратах.

Посуда. Применяется та же посуда, что и при определении витамина А.

Реактивы: α -токоферолацетат х. ч. в масле, препарат содержит в 1 мл 100 мг α -токоферола; эфир этиловый (серный) или наркозный; спирт-ректификат (перегнанный над NaOH); абсолютный спирт, метиловый спирт; едкий натр х. ч.; едкое кали, 60%-ный водный раствор; азотная кислота х. ч. (уд. вес 1,4); фенолфталеин, 1%-ный спиртовой раствор; йодистый калий, 10%-ный раствор; углекислый газ.

Отбор проб. Перед отбором пробы масляные, особенно спиртово-сахарные препараты, в которых при хранении выпадает осадок сахара, надо тщательно перемешать, многократно переворачивая флакон.

Проба для анализа из стандартных препаратов равна 1—2 г; при исследовании концентратов α -токоферолацетата в масляном растворе отвечивают около 0,2 г.

Ход анализа. Навеску препарата помещают в колбу емкостью 100—150 мл, добавляют 2 мл водного 60%-ного раствора KOH , 10 мл этилового (или метилового) спирта и подвергают смесь омылению с обратным воздушным холодильником на водяной бане в течение 15 мин. при температуре кипения спирта.

Омыленный раствор охлаждают, разбавляют 20 мл воды и переносят количественно в делительную воронку, в которой производят извлечение неомыляемой фракции серным эфиром. На первую экстракцию берут 50 мл, а на две последующие по

25 мл эфира. Эфирные вытяжки, соединенные вместе, промывают в делительной воронке 3—4 раза водой до удаления следов щелочи (проба на лакмусовую бумажку или фенолфталеин) и высушивают безводным сернистым натрием, которого берут 5—7 г. Высушенный прозрачный экстракт фильтруют, а сернистый натрий промывают на фильтре небольшим количеством эфира, присоединяемым к основному экстракту. Затем эфир отгоняют на водяной бане в токе CO_2 , как и при определении витамина А.

Полученный сухой остаток растворяют в 5 мл абсолютного спирта в колбочке на 50—100 мл, сюда же приливают 1 мл концентрированной азотной кислоты (уд. вес 1,4) и проводят окисление токоферолов на кипящей водяной бане. Для этого колбу закрывают пробкой с воздушным холодильником и кипятят смесь в течение 3 мин., не больше. Затем колбочку охлаждают проточной водой со льдом и оставляют на 15 мин. в темноте до появления интенсивной окраски. После этого смесь переводят количественно в мерную колбочку на 25 мл и доводят абсолютным спиртом до метки.

Если при этом образуется осадок, то его отфильтровывают, но на фильтре не промывают, чтобы не изменить объема спиртового раствора.

В конечном растворе витамин Е должен содержаться в количестве не менее 100 и не более 400 γ в 1 мл, так как только в этих пределах можно проводить определение по интенсивности окраски, образующейся при окислении витамина Е азотной кислотой.

В полученном окрашенном спиртовом растворе витамин Е определяют по оптической плотности D, величину которой находят при помощи фотометра или фотоэлектроколориметра, применяя синий светофильтр, имеющий максимум пропускания в области спектра 470 $m\mu$.

В качестве контрольного раствора применяют абсолютный этиловый спирт, 5 мл которого нагревают так же, как исследуемый раствор, с 1 мл концентрированной азотной кислоты в течение 3 мин. на кипящей водяной бане.

Охлажденную смесь разбавляют абсолютным спиртом до того же объема, что и проба исследуемого раствора.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА Е ПРИ ПОМОЩИ ФОТОМЕТРА

Определение начинают с включения лампочки осветителя, затем в поле зрения устанавливают светофильтр — 47, а барабаны правой и левой диафрагмы переводят в положение 100.

Затем одну из кюветок наполняют исследуемым раствором, другую — контрольным, закрывают их стеклянными крышками и устанавливают на оптическом столике.

Затем приступают к измерению, уравнивая интенсивность окраски полей прибора путем вращения диафрагмы, которая соответствует холостому или контрольному раствору. Отсчет производят по красным цифрам шкалы барабана, показывающим значение плотности D для исследуемого раствора.

Измерения делают не менее трех раз и берут среднее арифметическое из всех данных. Концентрацию витамина Е в исследуемом растворе находят по калибровочному графику, где каждому значению найденной плотности соответствует определенное содержание витамина Е в 1 мл раствора.

Калибровочный график составляют по серии стандартных спиртовых растворов с возрастающей концентрацией α -токоферола в пределах от 100 до 400 γ в 1 мл.

Содержащийся в этих растворах α -токоферол подвергают окислению азотной кислотой и по интенсивности окраски находят величину экстинкции (оптической плотности D) для каждого раствора.

Для приготовления стандартных растворов может служить масляный препарат, содержащий в 1 мл 100 мг α -токоферолацетата. Навеску такого препарата в 0,5 г омыляют спиртовым раствором КОН, как указано выше.

Выделенную неомыляемую фракцию (остаток после отгонки эфира) растворяют в мерной колбочке в 50 мл абсолютного спирта. Из этого раствора, содержащего по расчету в 1 мл 1000 γ α -токоферола, отбирают пипеткой в колбочки на 50—100 мл точно отмеренные количества (1, 2, 3 и 4 мл) спиртового раствора.

К указанным количествам добавляют абсолютный спирт соответственно 4, 3, 2 и 1 мл, чтобы объем жидкости составлял 5 мл. Затем в каждую колбочку наливают по 1 мл азотной кислоты (уд. вес. 1,4) и проводят реакцию окисления на кипящей водяной бане в течение 3 мин., после чего колбочку охлаждают и оставляют на 15 мин. в темноте. По истечении времени объем каждой жидкости доводят абсолютным спиртом до 10 мл.

В результате получают растворы, содержащие в 1 мл соответственно первоначально взятым количествам исходного раствора 100, 200, 300 и 400 γ α -токоферола. В приготовленных растворах, окрашенных в результате реакции в розово-красный цвет, проводят определение экстракции.

Калибровочный график вычерчивают, нанося по оси ординат найденные для каждого раствора значения экстинкции, а по оси абсцисс — соответствующие им концентрации α -токоферола (г на 1 мл).

Содержание витамина Е в спиртовых или масляных препаратах вычисляется по следующей формуле:

$$x = \frac{C \cdot v \cdot d}{g \cdot 1000},$$

где x — количество витамина Е в 1 мл испытуемого препарата, γ ;

C — найденное по калибровочному графику количество витаминов Е в 1 мл, γ ;

v — общий объем исследуемого раствора, с учетом всех разведений, мл;

d — удельный вес исследуемых растворов;

g — навеска препарата, г.

ХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА В₂ (РИБОФЛАВИНА) C₁₇H₂₀O₆N₄ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ

Принцип метода. Определение основано на том, что растворы рибофлавина имеют желтую окраску и обладают в ультрафиолетовом свете желто-зеленой флуоресценцией, интенсивность которой зависит от концентрации рибофлавина в растворе. Определение производится с помощью флуорометра типа ФМ-1. Пробы к анализу готовят применительно к определению витамина В₂ в белке и желтке яиц.

Яйцо разбивают и отделяют белок и желток, помещая их в два взвешенных стаканчика, в которые опущены стеклянные палочки.

Белок яйца экстрагируется нейтральным этиловым спиртом, 96%-ным, таким образом раствор рибофлавина освобождается от смесей и белой флуоресценции.

Белок взвешивают и хорошо перемешивают палочкой, по возможности не допуская образования пены. Затем в мерный цилиндр на 100—200 мл выливают примерно 23 мл белка, его точный вес находят по разности между весом стаканчика с белком и без белка.

В цилиндр приливают 75 мл 96%-ного этилового спирта для осаждения белка, закрывают его пробкой и оставляют стоять на несколько минут, отмечая сокращение объема раствора.

После этого в цилиндр бросают 10 стеклянных бусинок и взбалтывают в течение 2 час. Содержимое фильтруют через сухой бумажный фильтр и в фильтрате определяют рибофлавин.

При этом необходимо вычислить объем экстракта фильтрата.

Пример. Вес белка 37,79 г, вес пробы, взятой в цилиндр, 26,15 г, содержание влаги в пробе 22,7 мл (вычисляется на основании того, что влажность белка 87%). Добавлено этилового спирта 75 мл. С учетом влаги объем экстракта должен быть равным 75 мл спирта плюс 22,7 мл воды, т. е. 97,7 мл. В действительности объем экстракта для определения равен 95,2 мл, т. е. сократился на 2,5 мл.

Подготовка желтка. Желток яйца экстрагируют 55%-ным нейтральным этиловым спиртом, освобождая раствор рибофла-

вина от каротиноидов. Желток взвешивают в стаканчике, перемешивают палочкой в гомогенную массу и отливают примерно 8 мл в мерный цилиндр на 100—200 мл, в который предварительно наливают 50 мл 55%-ного этилового спирта и бросают 10 стеклянных бусинок. Точный вес взятой пробы желтка устанавливают так же, как и для пробы белка.

Желток нужно выливать медленно, небольшими порциями, тогда он будет осаждаться тонкими нитями, не прилипая к палочке, к бусинкам и стенкам цилиндра. Затем добавляют еще 50 мл 55%-ного этилового спирта, закрывают цилиндр, энергично взбалтывают 2 мин. вручную и затем в течение 2 час. на приборе для взбалтывания. Содержимое фильтруют через сухой бумажный фильтр и в фильтрате определяют рибофлавин. Рассчитывают объем полученного экстракта.

Пример. Вес желтка 17,79 г, вес пробы (около 8 мл) 8,51 г, влага пробы (50%) 4,25 г, объем добавленного 55%-ного этилового спирта 100 мл. Объем экстракта для определения рибофлавина: $4,25 + 100 = 104,25$ мл. Сокращение объема в данном случае не учитывают.

Ход определения. Определение проводят на флуорометре, сравнивая интенсивность флуоресценции исследуемого экстракта с флуоресценцией стандартного раствора рибофлавина¹. Если концентрация рибофлавина в экстракте окажется слишком высокой, его разбавляют, а чтобы избежать ошибок, возникающих из-за сокращения объема спиртовых растворов, для белковых экстрактов берут 77,5%-ный этиловый спирт, а для экстрактов желтка — 55%-ный.

Спиртовой экстракт и стандартный рабочий раствор² рибофлавина помещают в пробирки флуорометра и сравнивают интенсивность флуоресценции. Затем в обе пробирки прибавляют по 0,1 г бикарбоната натрия NaHCO_3 и гидросульфита $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и вновь производят измерение флуоресценции.

При этом флуоресценция стандартного раствора рибофлавина гасится до нуля.

В экстрактах проб остается небольшая флуоресценция, обусловленная посторонними флуоресцирующими веществами, которые сохранились несмотря на обработку. Тушить флуоресценцию рекомендуется 2—3 раза, так как в некоторых случаях это протекает медленно.

Содержание рибофлавина (витамина B_2) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(A - E) \cdot 0,4 \cdot v}{C \cdot a},$$

¹ Основной стандартный раствор — 40 мл рибофлавина растворяют и доводят до метки дистиллированной водой в мерной колбе на 1 л. Раствор можно хранить в течение месяца в темном, холодном месте.

² Рабочий стандартный раствор — 1 мл основного раствора вносят в мерную колбу на 100 мл и доводят до метки дистиллированной водой. В 1 мл полученного раствора содержится 0,4 мкг рибофлавина.

где X — содержание витамина B_2 в микрограммах на 1 г вещества;

A — показание флуорометра для исследуемого экстракта до тушения флуоресценции (первый отсчет);

B — показание флуорометра для исследуемого экстракта после тушения (второй отсчет);

C — показание флуорометра для стандартного раствора;

0,4 — в 1 мл стандартного раствора 0,4 мкг рибофлавина;

v — объем экстракта, мл;

a — вес пробы, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА B_{12} В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ¹

$C_{63}H_{90}N_{14}PCo$, мол. вес. = 1357,5 (кобаламин)

Витамин B_{12} на чашках Петри определяется путем измерения зоны роста *E. Coli* 113—3 вокруг короткой металлической или стеклянной трубочки (цилиндрика) с испытуемым раствором и со стандартным раствором витамина B_{12} .

Для определения активности витамина B_{12} в органах и тканях животных (кровь, печень, мышцы и другие) пользуются чашечным микробиологическим методом исследования.

Тест — объектом брали *Escherichia Coli* 113—3.

Сущность метода заключается в следующем: в природных материалах основная часть витамина B_{12} находится в связи с белком и является микробиологически неактивной до тех пор, пока эта связь не будет разрушена при нагревании или автоклавировании.

Подготовка испытуемого образца к анализу. 1—2 г образца исследуемого материала тщательно измельчают и суспензируют в больших пробирках с дистиллированной водой из расчета 1 : 5 или 1 : 10. Для лучшего отделения витамина B_{12} от белка и его стабилизации добавляют 1 мл 5%-ного водного раствора нитрита натрия; рН суспензии, добавляя несколько капель 1 н раствора соляной кислоты, доводят до 3,5—4,0, затем суспензию кипятят в течение 20 мин. на водяной бане или автоклавируют 15 мин. при давлении в 0,5 атм. После охлаждения содержимое пробирок фильтруют через бумажный фильтр или отстойное пробирок фильтруют через бумажный фильтр или отстаивают в течение суток для лучшего извлечения витамина B_{12} .

Третью или четвертую часть фильтрата разводят 1%-ным раствором лимоннокислого натрия с таким расчетом, чтобы он был в два раза слабее первого.

Если готовят суспензию в отношении 1 : 5, то последующее разведение должно быть 1 : 10, если витамина много и зона роста велика, то из разведения 1 : 10 готовят разведение 1 : 20.

¹ В модификации З. А. Курбацкой.

Материалы, содержащие большое количество жира, обезжиривают, экстрагируя серным эфиром.

Стандартный раствор витамина B₁₂ готовят из препарата с известной концентрацией. Например, у нас имеется препарат B₁₂ с концентрацией 200 мкг/мл витамина B₁₂. Для работы необходим основной раствор витамина B₁₂ с концентрацией 1 мкг/мл. Из него готовим рабочий стандартный раствор с содержанием в 1 мл 0,05 мкг витамина B₁₂, для чего основной раствор разводим в 20 раз 1%-ным водным раствором лимоннокислого натрия.

Среда для определения активности витамина B₁₂ предложена Всесоюзным научно-исследовательским институтом антибиотиков и состоит из следующих составных частей:

дистиллированной воды	— до 1 л,
хлористого аммония	— 2 г,
хлористого натрия,	— 3 г,
фосфорнокислого калия (двузамещенного)	— 0,4 г,
лимоннокислого натрия	— 3 г,
лактозы	— 3 г,
агар-агара	— 14—15 г.

Приготовление одномолиардной микробной взвеси Escherichia Coli 113—3. Тест-культурой для определения активности витамина B₁₂ служит штамм E. Coli 113—3, выращенный на пептонно-солевом агаре следующего состава:

пептон	— 20 г,
хлористый натрий	— 3 г,
агар-агар	— 18 г,
дистиллированная вода	— до 1 л.

Среду стерилизуют при 1 атм в течение 20 мин., разливают в широкие стерильные пробирки по 10—15 мл и скашивают.

Пересевать культуру нужно не реже одного раза в месяц.

Для определения витамина B₁₂ и засева среды № 4 ВНИИВ готовится смыв с суточной культуры E. Coli 113—3. В пробирку с суточной культурой приливают примерно 6—10 мл стерильной дистиллированной воды и производят смыв культуры с агара. Для засева среды нужна микробная взвесь с содержанием в 1 мл 1 миллиарда микробных тел. Такая взвесь готовится при помощи эталонов с известным содержанием микробных тел. Если приготовленный смыв не подходит к эталонному стандарту, а интенсивнее его, в пробирку добавляют еще воды, перемешивают и вновь сравнивают, и так до тех пор, пока эталонная пробирка и приготовленный смыв не будут одинаковыми. Стекло и пробирка с микробной взвесью должны по цвету и диаметру быть одинаковыми с эталонной пробиркой.

Ход анализа. Для определения концентрации витамина B₁₂ в одном образце необходимо засеять 4 чашки Петри (2 с ма-

лым разведением и 2 с большим). Перед началом работы в стерильной комнате приготавливается нужное количество чашек Петри, среды № 4 ВНИИА. В каждую чашку вливается по 15 мл среды. Когда она остывает до $48-50^{\circ}$, вводят из расчета 2,5 мл 40%-ного раствора глюкозы и 2—3 мл одномолилярной микробной взвеси на 100 мл среды, чтобы в 1 мл ее содержалось 20—30 миллионов микробных тел.

Чашки Петри ставят на ровный стол, от ровного разлива среды зависит правильность (округлость) зоны роста.

Когда среда в чашках остынет и затвердеет, на нее по определенному трафарету ставятся прокипяченные и охлажденные цилиндрики из нержавеющей стали, стекла, алюминия. Высота цилиндрика — 10, наружный диаметр — 8, внутренний — 6 мм (рис. 62).

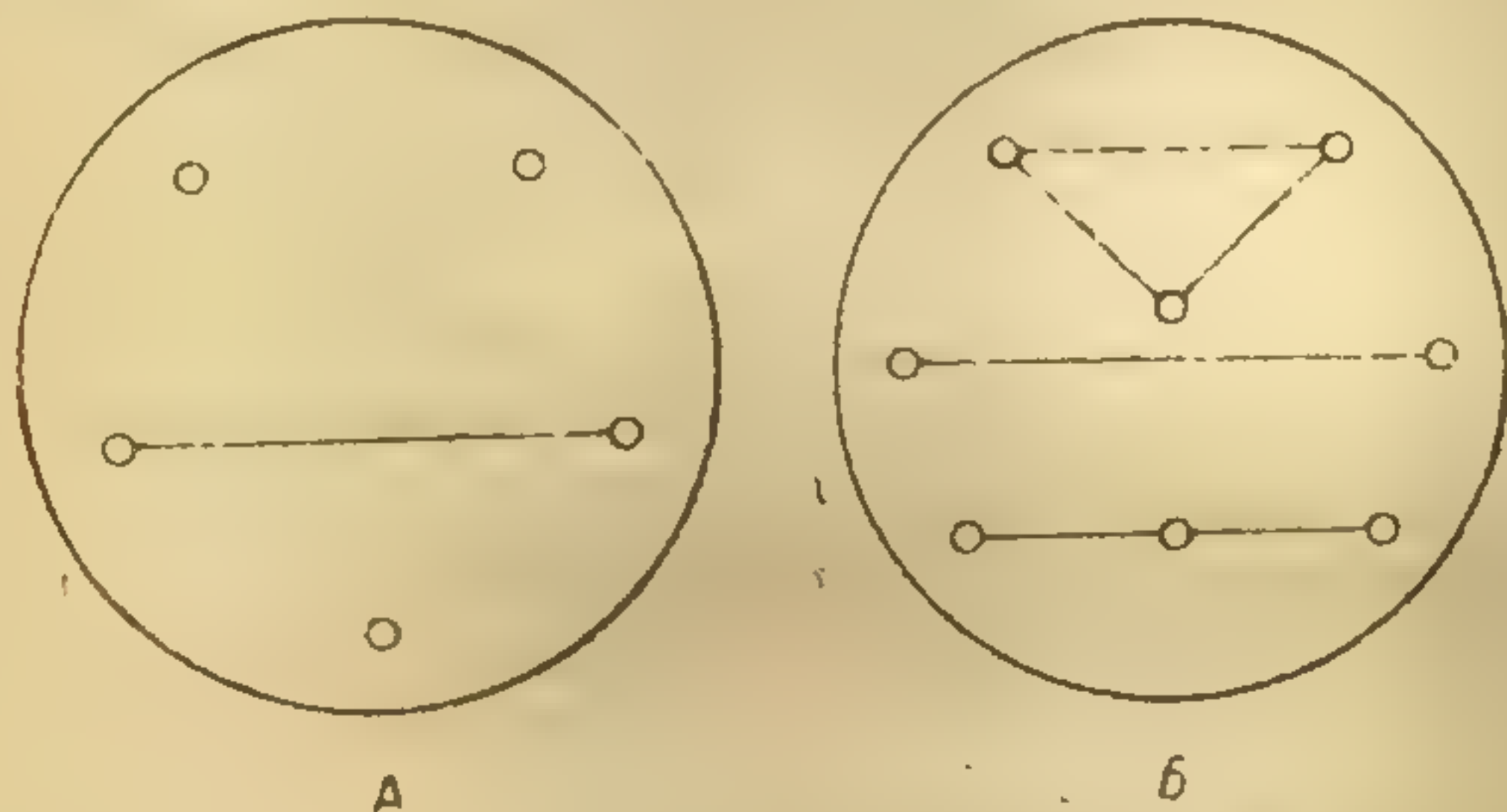


Рис. 62. Расстановка цилиндриков в чашках: А — обычная; Б — уплотненная

В цилиндрики, расположенные на черте, вносят по 0,1 мл стандартного раствора витамина B_{12} с содержанием 0,05 мкг/мл. Раствор можно вносить проверенной капельницей, по 5—6 капель. Затем с помощью пипетки в остальные цилиндрики вносят по 0,1 мл испытуемого раствора, начиная со слабой концентрации 1 : 10. Так же поступают и со вторым разведением — 1 : 5.

Вносить раствор в цилиндрики нужно осторожно, не сдвигая их с места. Затем чашки Петри осторожно переставляют в термостат и при температуре 37° выдерживают 18 часов для проращивания. После этого вынимают из термостата, стряхивают с них цилиндрики и производят отсчет диаметров зон роста.

В отделе зоогигиены СибНИВИ З. А. Курбацкой внесены некоторые изменения в расстановку цилиндриков по чашке Петри, что дает возможность вдвое сократить расход среды № 4 и чашек Петри, необходимых для определения одного образца. Кроме того, сокращается время, затрачиваемое на исследование витамина B_{12} . Если одному сотруднику за полный рабочий день при прежнем методе удавалось исследовать только три образ-

на, а в неделю 20, то новый метод расстановки цилиндриков дает возможность за неделю определить 30 образцов, что значительно ускоряет работу при массовых определениях активности витамина B_{12} .

Предлагается следующий трафарет для расстановки цилиндриков по чашке Петри. По такому способу для исследования одного образца расходуется 2 чашки вместо 4 (рис. 62 Б):

В цилиндрики, расположенные на черте посредине чашки, вносят 0,1 мл стандартного раствора витамина B_{12} с концентрацией 0,05 мкг/мл. В три цилиндрика, расположенные на треугольниках в обеих чашках, вносят испытуемый образец с

большой концентрацией, по 0,1 мл в цилиндрик. В цилиндрики, расположенные на малой черте, внизу обеих чашек, вносят испытуемый образец с малой концентрацией. Затем переносят чашки в термостат на 18 час. при температуре 37°. После выдерживания в термостате проводится отсчет определения диаметра зоны роста.

Активность витамина B_{12} высчитываем по таблицам активности антибиотиков, составленным научно-производственной лабораторией Всесоюзного научно-исследовательского витаминного института.

После выдерживания чашек в термостате как вокруг цилиндриков со стандартным раствором витамина B_{12} , так и вокруг цилиндриков с испыту-

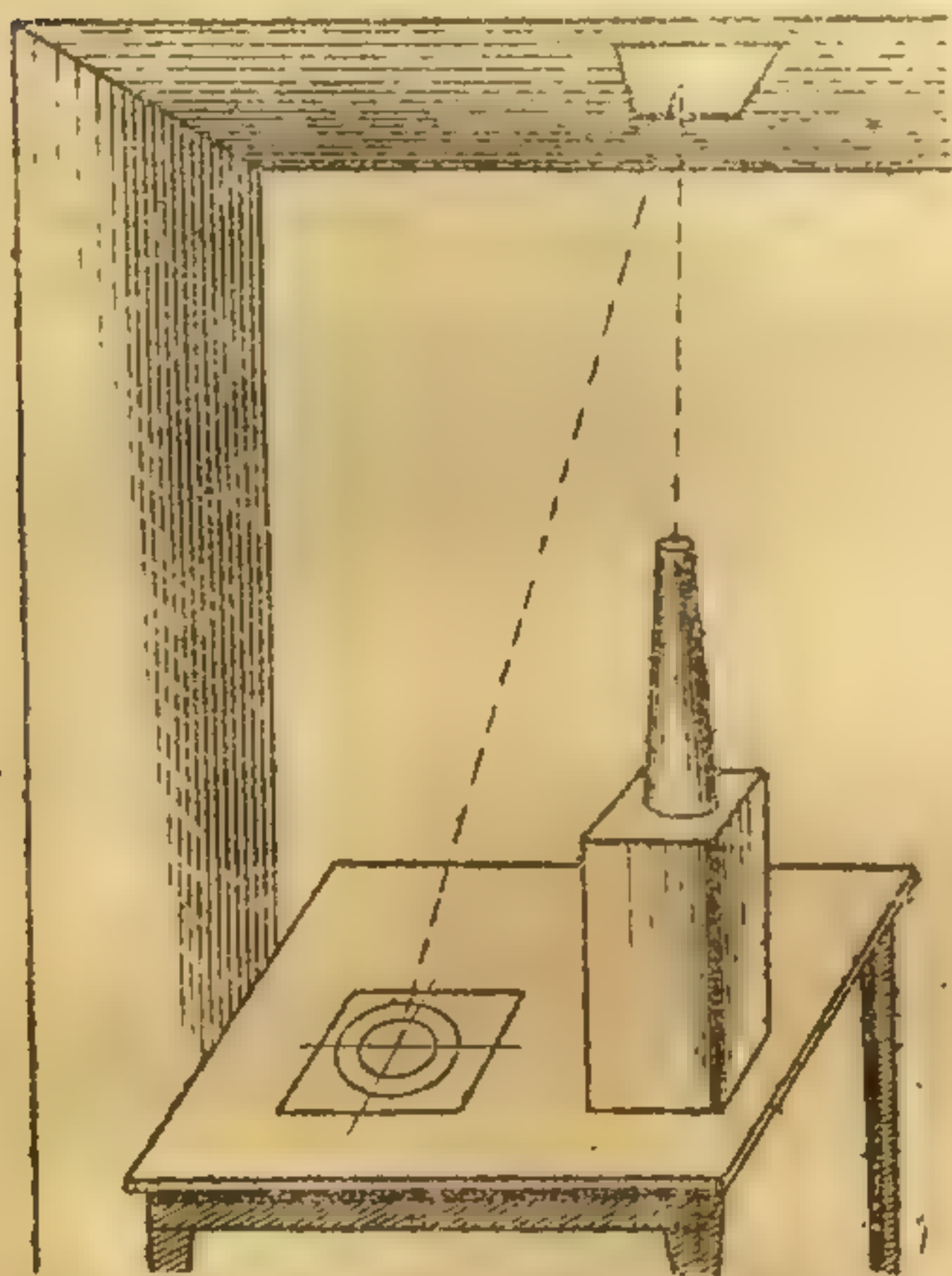


Рис. 63. Схема установки для определения зон роста колоний

емым образцом создается хорошее, плотное, круглое кольцо зоны роста *E. Coli* 113—3.

Диаметры зон роста определяются в темной комнате через проекционный фонарь (эпидиаскоп). Предварительно вычерчивается отсчетная сетка, по которой определяется зона роста (схема установки показана на рис. 63).

Эпидиаскоп ставится на стол тубусом вверх, изображение, отражаясь от зеркала, укрепленного над эпидиаскопом, падает на стол. На столе кладут чистый лист ватманской бумаги размером 40×40 см, в прорезь эпидиаскопа, куда вставляют диапозитивы, помещают прозрачную миллиметровую линейку. Наводят на резкость и на ватмане отмечают увеличенное изображение делений линейки по вертикальной линии, затем поворачи-

вают лист ватмана так, чтобы можно было провести еще одну линию, перпендикулярную первой, — на нее наносят такие же деления.

Затем вместо линейки помещают в прорезь эпидиаскопа чашку Петри с исследуемым образцом, вначале отсчитывают диаметр зоны роста стандартного раствора, потом испытуемого образца в первом и втором разведениях.

Пример расчета.

Разведение 1:5

Зоны роста

Разведение 1:10

Зоны роста

Испытуемого	Стандарта	Испытуемого	Стандарта
1 чашка 17,0 17,5 17,0	— 16,5 16,5	16,0 16,0 15,5	— 17,0 17,0
ср. $17,1 + 0,5 = 17,6$	$17 - 16,5 = 0,5$	ср. $15,7 + 0 = 15,7$	17,0
2 чашка 17,5 17,5 17,5	— 17,0 17,0	16,0 15,0 15,0	— 16,5 16,5
ср. $17,5 + 0 = 17,5$	$17 - 17 = 0$	ср. $15,4 + 0,5 = 15,9$	$17 - 16,5 = 0,5$
среднее из 2 чашек = 17,5		среднее из 2 чашек = 15,8	

Определяют разность диаметров зон между первым и вторым разведениями, она равна 1,7 мм (17,5—15,8).

Находят эту разность в таблицах расчета активности антибиотиков. В таблице с найденной разностью находят среднее значение зон роста первого разведения (целые — в вертикальном столбце, десятые — в горизонтальном).

Для разведения 1 : 5 среднее арифметическое зоны роста равно 17,5; ему соответствует в таблице значение — 0,816.

Для разведения 1 : 10 диаметр зоны равен 15,8; ему соответствует в таблице значение — 0,408.

Полученные данные нужно умножить на разведение испытуемого образца и на концентрацию стандартного раствора витамина В₁₂.

$$17,5 - 0,816 \times 0,05 \times 5 = 0,204 \text{ мкг/мл}$$

$$15,8 - 0,408 \times 0,05 \times 10 = 0,204 \text{ мкг/мл.}$$

Среднее содержание витамина В₁₂ в испытуемом образце 0,204 мкг/мл, а в 1 л или 1 кг в 1000 больше, т. е. 204 мкг/мл.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА D В РЫБЬЕМ ЖИРЕ (по И. Н. Гаркиной и В. Н. Букину)

Химические методы определения витамина D основаны на возникновении цветной реакции при взаимодействии витамина D с хлороформенным раствором треххлористой сурьмы в присутствии ацетилхлорида.

Возникающая желто-розовая окраска пропорциональна содержанию витамина D, ее можно учесть. Однако аналогичную реакцию дают стерины и продукты их фотохимического превращения. Кроме того, при наличии витамина A и каротина необходимо их удалять из раствора.

Реактивы и оборудование. 1. Хлороформ х. ч. (очистка хлороформа описана при определении витамина A, стр. 303). 2. Насыщенный раствор треххлористой сурьмы (очистка продажного препарата указана на стр. 303). 30 г очищенного реактива треххлористой сурьмы отвешивают в склянку с притертой пробкой и растворяют в 100 мл свежеприготовленного хлороформа, энергично взбалтывая. Реактив применяют не ранее чем через 6 час. после изготовления. Полученный насыщенный раствор при 20° содержит 21—23% треххлористой сурьмы, при хранении в темной склянке с притертой пробкой устойчив в течение двух недель. 3. Серный эфир (очистка описана на стр. 303). 4. Ацетилхлорид (свежеперегнанный), температура кипения 51°, при стоянии желтеет, хранят его в темной склянке с притертой пробкой. 5. Спирт этиловый, очищенный от альдегидов. Для этого его настаивают 12—18 час. на твердом NaOH (5—10 г на 4 л спирта) и перегоняют. 6. Адсорбент — бентонит. Бентонит заливают 2 н раствором HCl (на 400 г бентонита 1 л 2 н раствора HCl), доводят до кипения, охлаждают, фильтруют и отмывают дистиллированной водой до полного удаления ионов хлора. Затем промытый бентонит высушивают при 120—130°, растирают в ступке и хранят в склянке с притертой пробкой. 7. 1%-ный спиртовой раствор дигиталина. 8. Адсорбционная колонка высотой 20—25 см, диаметром 1,5 см. Ее готовят следующим образом: в суженную часть колонки плотно вставляют небольшой комочек ваты, насыпают бентонит высотой от 5 до 10 см, в зависимости от содержания витамина A в исследуемом препарате (при содержании более 500 ИЕ витамина A в 1 г жира высота адсорбента равна 10 см). Бентонит уплотняют легким постукиванием колонки о стол. Поверх адсорбента помещают свежeproкаленный сернистый натрий слоем в 1 см. На суженную часть колонки надевают пробку, которую вставляют в колбу Бунзена для отсасывания. 9. 10%-ный спиртовой раствор едкого калия. 10. Колбы Клайзена. Оборудование такое же, как при определении витамина A.

Составление калибровочного графика. Для составления калибровочного графика применяют раствор чистого кристалли-

ческого эргокальциферола в хлороформе, содержащего 10000 ИЕ витамина D₂ в 10 мл. Хлороформенный раствор витамина D хранят не более одного дня.

Для получения калибровочного графика берут 1,0; 0,75; 0,5 и 0,25 мл стандартного раствора витамина D₂, доводят хлороформом до 1 мл, добавляют по 3 капли ацетилхлорида и по 6 мл раствора треххлористой сурьмы. Общий объем реакционной смеси должен быть равен 7 мл.

После добавления последнего реактива точно через 4 мин. определяют величину экстинкции на электрофотокolorиметре со светофильтром 480—500 мμ. Для приведения электрофотокolorиметра к нулю пользуются чистым хлороформом с треххлористой сурьмой. Величины экстинкции откладывают на графике по оси ординат, а соответствующие концентрации витамина D— по оси абсцисс. В пределах содержания витамина D от 200 до 1000 ИЕ в 1 мл на графике получается прямая линия (1 ИЕ витамина D₂ соответствует 0,025 мкг чистого эргокальциферола).

Имеются указания, что хлороформенный раствор кальциферола неустойчив, поэтому основной раствор готовят, растворяя кальциферол в этиловом спирте, перегнанном над NaOH. Для этого 10 мг х. ч. кальциферола (навеска берется на аналитических весах) растворяют в 100 мл спирта. В 1 мл полученного раствора должно содержаться по расчету 4000 ИЕ витамина D₂. Основной раствор можно хранить в холодильнике в течение года.

Для приготовления стандартного раствора берут 10 мл основного раствора, добавляют 5 мл хлороформа и оба растворителя отгоняют в токе CO₂, а полученный сухой остаток растворяют в 40 мл хлороформа. В 1 мл стандартного раствора должно содержаться 1000 ИЕ витамина D₂. Затем для составления калибровочного графика поступают так же, как и в первом случае. Для построения калибровочной кривой можно применить масляный раствор чистого кальциферола.

Ход определения. 1. Навеску рыбьего жира в 5—10 г (в зависимости от содержания витамина D) помещают в колбу; снабженную обратным холодильником.

2. Добавляют соответственно 25—50 или 10 мл 10%-ного спиртового раствора КОН и омыляют в течение 45—50 мин. при 80° на водяной бане.

3. Содержание колбы количественно переносят в делительную воронку с равным объемом воды. Затем наливают туда 30—35 мл эфира для извлечения неомыляемой фракции. Извлечение производят трижды порциями эфира по 30—35 мл (так же, как при определении витамина А, стр. 302).

4. Эфирные экстракты соединяют, промывают водой до нейтральной реакции по фенолфталеину и просушивают в течение

30—40 мин. свежeproкаленным сернокислым натрием, часто перемешивая.

5. Высушенный эфирный экстракт сливают через фильтр в колбу Клайзена емкостью 50—100 мл, фильтр промывают эфиром. Эфир отгоняют на водяной бане в токе CO_2 или азота досуха.

6. Остаток неомыляемых веществ в колбе Клайзена растворяют в несколько приемов 20—30 мл хлороформа, переносят в мерную колбу емкостью 50 мл и хлороформом доводят до метки.

7. Если есть необходимость, для определения витамина А берут часть хлороформенного раствора (точно измеренную). Другую часть раствора (точно измеренную) подвергают хроматографической адсорбции.

Для этого в колонку наливают чистый хлороформ с таким расчетом, чтобы он смочил адсорбент (бентонит) и около 0,5 мл хлороформа осталось над адсорбентом. В колонку вносят хлороформенный раствор неомыляемых веществ и пропускают через адсорбент со скоростью 40—50 капель в минуту, что достигается присоединением колбы Буизена к водоструйному насосу. Пропустив весь испытуемый раствор, колонку промывают 3 раза хлороформом порциями по 15 мл, не смывая при этом в приемник синего кольца витамина А на бентоните.

8. Собранный в приемной колбе элюат, не содержащий витамина А, стгоняют на водяной бане в токе CO_2 или азота досуха.

Остаток растворяют в 1—5 мл этилового спирта (берется этиловый спирт, подсушенный в течение суток над безводным CuSO_4 и перегнанный над безводным NaOH).

9. Спиртовой раствор нагревают почти до кипения и добавляют к нему по каплям раствор дигитанина для осаждения стеринов. Для полноты осаждения стеринов дигитанина требуется в 6—8 раз больше (по весу), чем стеринов. В 1,0 г рыбьего жира содержится около 5 мг стеринов.

10. Осадок отфильтровывают на микроворонке через маленький плотный фильтр, промывают спиртом, затем эфиром и высушивают при 100° в течение 40—50 мин.

11. Для того чтобы узнать вес стеринов, осадок отделяют от бумаги, взвешивают и полученное число умножают на 0,2431 (коэффициент для холестерина).

12. Фильтрат после удаления стеринов разбавляют вдвое водой, переносят в делительную воронку и экстрагируют трижды эфиром порциями по 25 мл. Эфирные экстракты соединяют, отмывают от спирта 3 раза водой порциями по 30 мл и высушивают сернокислым натрием.

13. Эфир переносят в колбу Клайзена и отгоняют досуха на водяной бане в токе CO_2 или азота.

14. Сухой остаток растворяют в 2—5 мл хлороформа и определяют витамин D.

15. К 1 мл полученного раствора добавляют 2—3 капли ацетилхлорида и 6 мл раствора треххлористой сурьмы. Точно через 4 мин. окраску раствора измеряют в электрофотоколориметре со светофильтром 490 *mμ*.

Содержание витамина D определяют по формуле:

$$x = \frac{C \cdot V}{a},$$

где *x* — содержание витамина D (ИЕ в 1 г рыбьего жира);
C — найденное по калибровочному графику количество витамина D в 1 мл раствора, ИЕ;
a — навеска рыбьего жира, г;
V — разведение, мл (с учетом части раствора, оставленной для определения витамина А, и всех последующих объемов).

Характеристика различных жиров
 (по Государственной фармакопее СССР, 1961 г.)

Показатели	Нормы по видам жира			
	тресковый	дельфиний	тюлений	китовый
Цвет	светло-желтый до желтого			
Запах и вкус	Свойственный данному виду жира, без прогорклости и постороннего запаха и привкуса			
Прозрачность	Прозрачный, не образующий мути или осадка при 0° в течение 3 час.			Прозрачный, не образующий мути или осадка при 15° в течение 3 час.
Кислотное число	2,2	2,2	2,6	2,5

Все жиры хранят в темном и прохладном месте при температуре не выше 10°.

Необходимо учитывать, что при продолжительном и особенно неправильном хранении рыбий жир прогоркает, при этом повышается кислотное число. Применение такого рыбьего жира отрицательно сказывается на организме птиц и животных, при этом наблюдается Е-гиповитаминоз.

В литературе имеются указания на то, что добавление большого количества рыбьего жира в корм телятам приводит к мышечной дистрофии (беломышечная болезнь), предупреждаемой введением витамина Е.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ¹

Никотиновая кислота при взаимодействии с бромистым роданом образует соединение, которое в присутствии ароматических аминов (метол, анилин) в нейтральной или слабощелочной среде дает производное, окрашенное в желтый цвет. Интенсивность окраски пропорциональна количеству никотиновой кислоты.

Реактивы. 1. 10 н. раствор серной кислоты (270 мл концентрированной серной кислоты переносят в мерную колбу емкостью 1000 мл, в которую налито 600—700 мл дистиллированной воды, после охлаждения доводят водой до метки). 2. 5 н. раствор серной кислоты. Готовят из 10 н. раствора, разбавляя водой в соотношении 1 : 1. 3. 2 н. раствор серной кислоты. Готовят, разводя 10 н. раствора серной кислоты в соотношении 1 : 5. 4. 0,1 н. раствор серной кислоты (2 н. раствор разводят водой в отношении 1 : 20). 5. 10 н. раствор едкого натрия. В фарфоровый стакан вливают 200—300 мл дистиллированной воды, осторожно вносят 200 г едкого натрия и помешивают стеклянной палочкой до полного растворения. После охлаждения раствор переносят в мерную колбу емкостью 500 мл и доводят водой до метки. 6. 4 н. раствор едкого натра: 40 мл 10 н. раствора переносят в мерную колбу емкостью 100 мл и доводят водой до метки. 7. 80%-ный раствор сернокислого цинка. 80 г сернокислого цинка растворяют в воде и доводят в мерном цилиндре емкостью 100 мл водой до метки. 8. 0,5 н. раствор соляной кислоты. 42 мл концентрированной соляной кислоты вносят в мерную колбу емкостью 1000 мл и доводят водой до метки. 9. 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина. 1 г фенолфталеина переносят в мерную колбу емкостью 100 мл, приливают 74 мл 96%-ного этилового спирта и доводят водой до метки. 10. Кальций углекислый, кристаллический. 11. Натрий бисульфит кристаллический. 12. Калий или аммоний роданистый (1%-ный и 10%-ный растворы). 13. Бромная вода, 4 мл брома х. ч., уд. в. 3,2, смешивают со 100 мл воды. После отстаивания прозрачный раствор сливают в склянку из темного стекла с притертой пробкой, которую хранят в темном месте (бром хранят с особой осторожностью в склянке с притертой пробкой. Он очень летуч, пары вредные). 14. Метол. Продажный метол имеет окраску и его необходимо перекристаллизовать. Для этого берут 500 мл 0,1 н. раствора серной кислоты в химический стакан и нагревают до кипения. 100 г метола смешивают с 0,7 г бисульфита натрия, вносят в кислоту и вновь нагревают до закипания. Если раствор сильно окрашен, к нему прибавляют 10 г активированного угля.

¹ Приводится такая же методика, как в книге Н. К. Флоринского «Технический контроль качества сырья и комбикормов». М., 1963.

Раствор быстро фильтруют в воронке Бюхнера, предварительной нагретой кипяченой водой. Фильтрат переносят в большой химический стакан, куда заранее вносят 0,3 г бисульфита натрия, добавляют 700 мл 96%-ного этилового спирта. Содержимое стакана перемешивают и помещают на несколько часов в ледяную баню в темноту (стакан закрывают часовым стеклом). Выделившиеся кристаллы отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают на фильтре 2—3 раза этиловым спиртом (по 40—50 мл) и высушивают на воздухе в темном месте. Перекристаллизованный метол хранят в склянке из темного стекла с притертой пробкой в темном месте. 8%-ный раствор метола готовят перед употреблением, растворяя 8 г перекристаллизованного метола в мерной колбе емкостью 100 мл в 0,5 н. растворе соляной кислоты. 15. Роданбромистый раствор. Приготавливают перед употреблением следующим образом: к охлажденной льдом бромной воде (взятой в количестве, требуемом для анализа) прибавляют по каплям вначале 10%-ный раствор роданистого аммония, или калия до светло-желтого окрашивания, а затем 1%-ный раствор того же реактива до полного обесцвечивания. Приливать его нужно осторожно, так как избыток его возобновляет окраску. К обесцвеченной бромной воде добавляют порциями по 20—25 мг углекислый кальций до прекращения выделения пузырьков газа и образования мути. Раствор фильтруют в склянку из темного стекла с притертой пробкой и оставляют в холодном и темном месте. Работу с бромной водой надо вести под тягой. 16. Основной стандартный раствор никотиновой кислоты. Точную навеску никотиновой кислоты в 100 мг помещают в мерную колбу емкостью 100 мл, растворяют в небольшом количестве воды, добавляют 1 мл 10 н. раствора серной кислоты и после растворения доводят водой до метки. В 1 мл раствора содержится 100 мкг никотиновой кислоты. Раствор пригоден в течение года при хранении на холоде. Рабочий стандартный раствор никотиновой кислоты используется свежеприготовленным. Берут 10 мл основного стандартного раствора никотиновой кислоты, переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят водой до метки, тщательно перемешивают. Затем берут 5 мл полученного раствора, переносят в мерную колбу емкостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают. В 1 мл стандартного раствора содержится 5 мкг никотиновой кислоты. 17. Изобутиловый или этиловый спирт (в капельнице).

Приборы. 1. Электрофотоколориметр. 2. Водяная баня. 3. Насос водоструйный или Камовского. 4. Бюретка на 25 мл. 5. Колос водоструйный или Камовского. 4. Бюретка на 25 мл. 5. Колбы мерные емкостью 100, 500 и 1000 мл. 6. Цилиндры мерные емкостью 50 мл. 7. Пробирки емкостью 30—40 мл с притертыми пробками или колбы такой же емкости с притертыми пробками. 8. Воронки химические. 9. Пипетки градуированные емкостью 1, 2, 5 и 10 мл. 10. Пипетки Мора емкостью 25 мл.

11. Воронка Бюхнера диаметром 12 см. 12. Колба Бунзена емкостью 1000 мл. 13. Стаканы химические емкостью 1; 1,5 л.

Ход определения. 1. Навеску мелко измельченного вещества 5—10 г (содержащего приблизительно 100—150 мкг никотиновой кислоты) помещают в мерную колбу емкостью 100 мл, прибавляют 75 мл 2 н. раствора серной кислоты, оmyвая воронку и колбу кислотой, и тщательно перемешивают. Колбу помещают в кипящую водяную баню на 90 мин., содержимое периодически перемешивают.

2. Колбу охлаждают, доводят содержимое до метки водой, тщательно перемешивают и фильтруют через фильтр.

3. Из фильтрата отбирают 25 мл в цилиндр емкостью 50 мл, добавляют 1—2 капли фенолфталеина и по каплям 10 н. раствор едкого натра до появления бледно-розового окрашивания (раствор смешивают палочкой). Избыток внесенной щелочи устраняют добавлением 1—2 капель 5 н. раствора серной кислоты (розовое окрашивание исчезает). Раствор охлаждают.

4. К раствору добавляют по каплям 2 мл 80%-ного раствора сернокислого цинка и 1—2 капли изобутилового или этилового спирта (для устранения пены при смешивании).

5. В цилиндр из пипетки по каплям добавляют 4 н. раствор едкого натрия, одновременно энергично перемешивают палочкой до образования густого осадка и появления бледно-розового окрашивания. Избыток щелочи устраняют добавлением 1—2 капель 5 н. раствора серной кислоты до исчезновения розового окрашивания.

6. Раствор оставляют на 10 мин., время от времени перемешивая. Затем доводят смесь до 50 мл водой, перемешивают и фильтруют через фильтр (можно центрифугировать)¹.

7. Для проведения реакции используют 7 пробирок или колб с притертыми пробками, которые заполняют по следующей схеме: в четыре пробирки наливают по 5 мл полученного фильтрата: в двух из них — опыт А, в двух других — поправка на аминореагирующие вещества А₁, еще в две пробирки наливают по 5 мл рабочего стандартного раствора никотиновой кислоты — опыт В и в одну пробирку — 5 мл дистиллированной воды — опыт В₁.

8. Все пробирки, за исключением тех, в которых находятся аминореагирующие вещества, помещают на 5 мин. на водяную баню, нагретую до 50°. Во все нагретые пробирки из бюретки прибавляют (под тягой) по 2 мл роданбромидного раствора. Содержимое пробирок перемешивают, ставят на водяную баню при 50° на 10 мин. Затем пробирки охлаждают до комнатной температуры и оставляют на 10 мин. в темном месте.

9. В пробирки с аминореагирующими веществами (А₁) прибавляют по 2 мл воды.

¹ В случае необходимости анализ на этой стадии можно прервать, поместив фильтрат в холодильник.

**Схема добавления реактивов при определении
никотиновой кислоты**

Раствор	Количество, мл					
	опыт	В	поправка на рек. В ₁	опыт	А	поправка на аминореаг. в-ва, А ₁
Стандартный раствор никотиновой кислоты	5	5	—	—	—	—
Испытуемый раствор	—	—	—	5	5	5
Роданбромидный раствор	2	2	2	2	2	—
Раствор метола	3	3	3	3	3	3
Дистиллированная вода	—	—	5	—	—	2

10. Во все пробирки приливают по 3 мл раствора метола, перемешивают и оставляют на час в темном месте.

11. Содержимое пробирок фильтруют, если оно не прозрачно, и измеряют интенсивность окраски фильтратов на электрофотоколориметре, используя синий светофильтр.

Содержание никотиновой кислоты в корме вычисляют по формуле:

$$x = \frac{(A - A_1) \cdot V \cdot V_2 \cdot C \cdot 100}{(B - B_1) \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot \alpha \cdot 1000},$$

где x — количество никотиновой кислоты, мг %;

A — оптическая плотность испытуемого раствора;

A_1 — оптическая плотность аминореагирующих веществ;

B — оптическая плотность стандартного раствора;

B_1 — оптическая плотность поправки на реактивы;

V — объем, до которого доведена навеска, мл;

V_1 — количество гидролизата, взятое на обработку сернокислым цинком, мл;

V_2 — объем раствора после добавления сернокислого цинка, мл;

V_3 — количество испытуемого раствора, взятое на реакцию, мл;

C — количество никотиновой кислоты в 5 мл стандартного раствора, мкг;

α — навеска корма, г.

При подстановке соответствующих значений формула будет иметь следующий вид:

$$x = \frac{(A - A_1) \cdot 100 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{(B - B_1) \cdot 25 \cdot 5 \cdot \alpha \cdot 1000} = \frac{(A - A_1)}{(B - B_1) \cdot \alpha}.$$

Недостаточность никотиновой кислоты может проявляться у свиней и птиц, особенно при использовании рационов, в которых преобладает кукуруза.

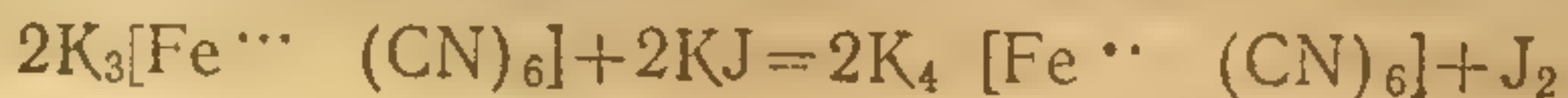
В тканях животных никотиновая кислота может синтезироваться из триптофана, но для синтеза необходимо достаточное количество протеина, рибофлавина и пиридоксина. У жвачных животных никотинования кислота синтезируется бактериями рубца.

По данным М. В. Ермолаева, ферментация зерна кукурузы в течение четырех суток увеличивает содержание никотиновой кислоты в 2 раза, ферментация гороха — в 3 раза (по данным Нгуен Нги).

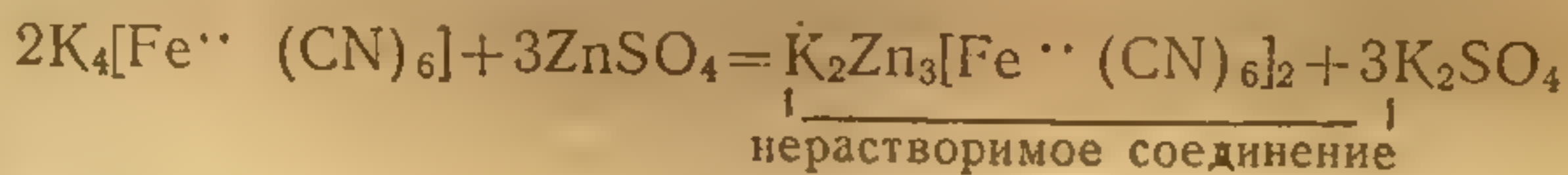
Содержание никотиновой кислоты в кормах указано в приложении (см. таблицу 8).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРА В КРОВИ (способ Хагедорна и Иенсена)

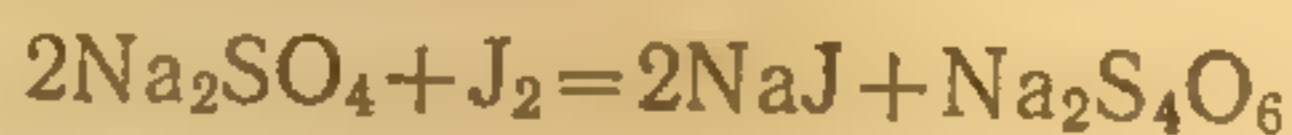
Принцип определения. Трехвалентный железосинеродистый калий при кипячении в щелочной среде в присутствии восстанавливающих веществ переходит в двухвалентный железосинеродистый калий. Восстанавливающим веществом в данном случае является виноградный сахар (и другие восстанавливающие вещества крови). Образовавшийся железистосинеродистый калий осаждается в виде двойной цинк-калиевой соли (иначе возможна обратная реакция), а количество оставшегося невосстановленного железосинеродистого калия определяют, прибавляя избыток йодистого калия и кислоты. Железосинеродистый калий количественно восстанавливается йодистым калием, причем освобождается эквивалентное количество свободного йода.



Эта реакция, как указано выше, протекает количественно слева направо, если образовавшееся двухвалентное соединение удаляется из смеси путем осаждения в виде цинкового соединения:



Освободившийся йод оттитровывают гипосульфитом натрия. Реакция протекает по формуле:



Из изложенного ясно, что при этом определяется не только виноградный сахар, но и некоторые другие восстанавливающие вещества, содержащиеся в крови. При осаждении цинковыми солями количество этих веществ меньше, чем в прежних пробах.

Требуемое количество крови: 0,1 мл на каждое определение.

- Реактивы: 1. 0,45%-ный раствор сернокислого цинка ($ZnSO_4$) — заготавливают 45%-ный раствор сернокислого цинка и из него, по мере надобности, через каждые 10—14 дней готовят требуемое стократное разведение.

2. 0,1 н. раствор едкого натра. Титр может быть не вполне точным, но концентрация его ни в коем случае не должна значительно превышать указанную. Смесь этих двух реактивов, приготавливаемая перед употреблением (см. ниже), служит для осаждения белков.

3. Содовощелочной раствор железосинеродистого калия (красной кровяной соли) ($K_3Fe^{III}(CN)_6$). Раствор готовят из химически чистого препарата, но и самые лучшие покупные препараты желательно очистить перекристаллизацией; кристаллы промывают несколькими порциями холодной воды и затем растворяют в кипящей воде. Раствор фильтруют сквозь маленький фильтр, предварительно промытый горячей дистиллированной водой. Фильтрат помещают в фарфоровую чашку, выставляемую на лед. Избыток воды с выпавших на холоду кристаллов удаляют промытой фильтровальной бумагой и помещают их в сушильный шкаф при 50° или в термостат. Очищенный таким образом препарат при хранении в темном месте неограниченно стоек. 1,65 г препарата точно отвешивают на аналитических весах, переносят в мерную колбу емкостью 1 л, растворяют в воде, прибавляют 10,6 г безводного (прокаленного в платиновой или фарфоровой тигле и охлажденного в эксикаторе) углекислого натрия и доводят водой до метки. Раствор хранят в темной бутылке на холоду, титр его не изменяется в течение двух месяцев.

4. Хлор-цинк-йодистый раствор: а) 50 г сернокислого цинка и 250 г хлористого натрия растворяют в 1 л воды; если нужно, фильтруют; б) перед употреблением отвешивают йодистый калий, нужный для получения 2,5%-ного раствора, например, к 50 cm^3 цинк-хлор-натриевого раствора прибавляют 1,25 г йодистого калия.

5. 3%-ная уксусная кислота. 3 cm^3 ледяной уксусной кислоты отмеривают в мерную колбу емкостью 100 cm^3 и доливают дистиллированной водой до метки.

6. 1%-ный раствор крахмала; приготовленный заранее насыщенный раствор хлористого натрия наливают в мерную колбу емкостью 100 cm^3 более чем до половины; 1 г растворимого крахмала (*Amylum Solubile*) растворяют в пробирке в нескольких кубических сантиметрах дистиллированной воды при нагревании, выливают в ту же колбу и доливают раствором хлористого натрия до метки. Раствор неограниченно стоек; с йодом он должен давать чисто синее окрашивание.

7. 0,005 н. раствор гипосульфита. Его готовят перед употреблением из 0,1 н. раствора, отмеривая точно 5 мл в мер-

ную колбу емкостью 100 мл и доливая прокипяченной (для удаления углекислоты) дистиллированной водой до метки. Титр гипосульфита проверяют по титрованному раствору KIO_3 . Каждый раз при приготовлении нового раствора повторяют проверку не реже одного раза в неделю. Для этого отливают в стаканчик точной пипеткой 2 мл 0,005 н. раствора подноватокислого калия, прибавляют 2 мл уксусной кислоты (5), 2 мл хлор-цинка-йодистого раствора (4), 2—3 капли крахмала (6) и титруют гипосульфитом из микробюретки до исчезновения окраски.

8. 0,005 н. раствор йодноватокислого калия: 0,3567 г отвешивают на аналитических весах и растворяют в 2 л дистиллированной воды.

9. Для фильтрования свернувшейся при кипячении крови (см. ниже) нужно заготовить вату. Обычная гигроскопическая вата всегда содержит некоторое количество восстанавливающих веществ, что отражается на результате. Поэтому вату нужно заранее повторно прокипятить в дистиллированной воде, каждый раз сливая и отжимая воду; промытая таким образом и высушенная вата вполне пригодна к употреблению. Если пользуются фильтровальной бумагой (хорошие сорта беззольных фильтров), то перед фильтрованием крови промывают их горячей дистиллированной водой.

Оборудование: 1) две (или одна) микропипетки емкостью 0,1 мл; 2) пробирки диаметром около 15 мм, по две на каждое исследование (два параллельных определения); желательно иметь металлический штатив, вместе с которым можно было бы впоследствии перенести пробирки в кастрюлю с кипящей водой; 3) стеклянные воронки диаметром 3—4 см, по две на каждое определение; 4) плоскодонные стаканчики или пробирки диаметром 3—4 см и высотой около 10—12 см, два на каждое определение; желательно для них тоже иметь соответствующий металлический штатив; 5) очень точная пипетка Мора, желательно с двумя метками, емкостью 2 мл; 6) пипетка Мора емкостью 1 мл; 7) пипетка Мора емкостью 5 мл; 8) две градуированные пипетки емкостью 10 мл; 9) несколько мерных колб емкостью 50, 100 или 200 мл; 10) микробюретка емкостью 2 мл с делениями на $\frac{1}{100}$ мл.

Ход определения. В штативе устанавливают вдвое больше пробирок, чем предполагается провести опытов, снабжают их соответствующими номерами, причем две параллельные пробирки помечают одинаковым номером. В каждую отмеривают по 5 мл 0,45%-ного раствора сернокислого цинка (1) и по 1 мл 0,1 н. едкого натра (2), при этом образуется хлопьевидный осадок гидрата цинка. Набирают в микропипетку кровь из уха или вены животного, тщательно вытирают кончик пипетки и выдувают кровь в приготовленную смесь; несколько раз набирают ее

в пипетку и вновь выдувают, чтобы смыть всю кровь со стенок пипетки.

Пробирки с кровью могут несколько часов стоять без изменений, так как сернистый цинк задерживает гликолиз, поэтому можно брать кровь у всех подлежащих исследованию больных животных. Штатив с пробирками переносят в кипящую водяную баню (таковой может быть обыкновенная кастрюля) на 3 мин. Одновременно заготавливают штатив со стаканчиками (широкими пробирками), помеченными теми же номерами, что и пробирки, снабжают каждый воронкой, в которую вложен комочек ваты (9), смоченной водой, и слегка утрамбовывают стеклянной палочкой. Жидкость из каждой пробирки фильтруют в соответствующий стаканчик, после чего ополаскивают пробирку и промывают ватный фильтр: наливают 3 мл дистиллированной воды, встряхивают, выливают в ту же воронку, еще раз наливают 3 мл воды и выливают в воронку. Для быстрого приливания воды в серию пробирок удобно наливать воду в бюретку. Если ваты не очень много и она не чересчур плотно утрамбована, фильтрование проходит быстро; фильтрат должен быть совершенно бесцветным и прозрачным.

Когда вся жидкость до последней капли профильтровалась, воронки снимают и в каждый стаканчик прибавляют очень точной пипеткой ровно 2 мл железосинеродистого раствора (3), после чего штатив со стаканчиками переносят в кипящую водяную баню ровно на 15 мин.; вода должна все время кипеть. Затем штатив со стаканчиками вынимают и переносят на несколько минут в тепловатую, а потом холодную воду. Охлажденный раствор может стоять несколько часов. После охлаждения приливают в каждый стаканчик по 2 мл йод-цинк-хлор-натриевого реактива (4) и уксусной кислоты (5); так как при этом не требуется большой точности, то можно для скорости пользоваться градуированными пипетками емкостью 10 мл; прибавляют по 3–4 капли крахмала и титруют 0,005 н. раствором гипосульфита натрия до полного обесцвечивания. Отмечают количество потраченного гипосульфита для каждой из двух параллельных пробирок. Одновременно с пробирками, содержащими испытуемую кровь, ставят и слепой опыт, т. е. определяют восстанавливающее действие самих реактивов. Для этого в две пробирки точно так же, как в пробирки с кровью, отмеривают реактивы (1 и 2), обрабатывают их так же, как все остальные пробирки, и титруют. При этом если титр железосинеродистого реактива был правилен, вата хорошо промыта и т. д., на обесцвечивание жидкости в слепом опыте должно затрачиваться 1,98—1,96 мл гипосульфита.

Вычисление. Для каждого исследования берут среднее из двух определений (если они не слишком расходятся) и ищут по прилагаемой таблице, какому количеству глюкозы оно соответствует. Если титр гипосульфита не вполне точен, в показания

микробюретки вносят поправку, согласно фактору раствора. Из найденной величины вычитают то количество глюкозы, которому соответствует восстанавливающее действие самих реактивов. Полученная разность соответствует количеству сахара (восстанавливающих веществ) в 100 мл крови.

Определение сахара в крови (по Хагедорну)
(истраченное количество 0,005 н гипосульфита эквивалентно количеству виноградного сахара, мг в 100 мл крови)

Показания микробюретки	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,0	335	382	379	376	373	370	367	364	361	358
0,1	355	352	350	348	345	343	341	338	336	333
0,2	331	329	327	325	323	321	318	316	314	312
0,3	310	308	306	304	302	300	298	296	294	292
0,4	290	288	286	284	282	280	278	276	274	272
0,5	270	268	266	264	262	260	259	257	255	253
0,6	251	249	247	245	243	241	240	238	236	234
0,7	232	230	228	226	224	222	221	219	217	215
0,8	213	211	209	208	206	204	202	200	199	197
0,9	196	193	191	190	188	186	184	182	180	179
1,0	177	175	173	172	170	168	166	164	163	161
1,1	159	157	155	154	152	150	148	146	145	143
1,2	141	139	138	136	134	132	131	129	127	125
1,3	124	122	120	119	117	115	113	111	110	108
1,4	106	104	102	101	099	097	095	093	092	090
1,5	088	086	084	083	081	079	077	075	074	072
1,6	070	068	066	065	063	061	059	057	056	054
1,7	052	050	048	047	045	043	041	039	038	036
1,8	034	032	031	029	027	025	024	022	020	019
1,9	017	015	014	012	010	008	007	005	003	002

Пример. На титрование пробирки с кровью потрачено 0,93 мл гипосульфита, на титрование параллельной пробирки — 0,96 мл; средняя величина, очевидно, будет находиться между 0,94 и 0,95 мл. Ищем в первом вертикальном столбце таблицы 0,9 и в верхней строчке числа 4 и 5; на месте пересечения находим 188 и 186; берем 187. Из этого еще нужно вычесть величину слепого опыта: предполагаем, что на титрование пошло 1,97 и 1,96 мл, что соответствует 007 и 005; берем 006. Из 187 нужно вычесть 006; 181 и означает количество сахара в 100 мл крови (181 мг%).

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ В СЫБОРОТКЕ КРОВИ,
ПО ДЕ-ВААРДУ**

Реактивы. Насыщенный раствор щавелевокислого аммония, 0,01 н. раствор марганцовокислого калия, не содержащая нитритов азотная кислота (крепкая, не пожелтевшая, разводится пополам с водой).

Ход определения. Точной пипеткой 0,5 или 1 мл исследуемой сыворотки наливают в центрифужную пробирку. Прибавляют 0,5 мл насыщенного раствора щавелевокислого аммония и через 30 мин. центрифугируют в течение 10 мин.

После центрифугирования жидкость над осадком осторожно отсасывают, прибавляют 2—3 мл воды, взбалтывают и вновь центрифугируют. Промывание и центрифугирование повторяют еще 2—3 раза. Последние следы жидкости очень осторожно удаляют капиллярной (пастеровской) пипеткой. К осадку прибавляют 0,3 мл азотной кислоты, после чего жидкость подогревают на водяной бане до 50°.

По растворении осадка содержимое пробирки титруют из микробюретки 0,01 н раствором марганцовокислого калия до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 2 мин.

Вычисление содержания кальция в крови производят следующим образом: 1 мл 0,01 н раствора марганцовокислого калия соответствует 0,2 мг кальция. Поэтому, чтобы определить количество кальция в 100 мл сыворотки крови, нужно 0,2 мг умножить на количество раствора марганцовокислого калия, потраченное при титровании 100 мл сыворотки крови, и разделить произведение на количество взятой сыворотки. Из полученной величины вычитают количество того же раствора марганцовокислого калия, пошедшее при титровании в слепом опыте. Расчет ведут по формуле:

$$x = \frac{(a - b) \cdot 0,2 \cdot 100}{z},$$

где a — количество 0,01 н раствора марганцовокислого калия, пошедшее на титрование испытуемого раствора, мл;

b — количество того же раствора, пошедшее на титрование в слепом опыте, мл;

0,2 — количество кальция, соответствующее 1 мл 0,01 н раствора KMnO_4 , мг;

100 — приведение к 100 единицам (объема);

z — количество сыворотки, взятое для исследования, мл.

КОМПЛЕКСОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ С ТРИЛОНОМ Б МЕТОДОМ ОБРАТНОГО ТИТРОВАНИЯ

(в модификации А. Ф. Арсеньева)

Комплексометрическое определение кальция и магния основано на способности трилона Б образовывать с ионами металлов прочные внутрикомплексные соединения (требуется опре-

деленное рН). Грамм-ион комплексона всегда связывается с грамм-ионом металла независимо от валентности последнего, при этом освобождаются два грамм-иона водорода.

Поскольку комплексные соединения кальция и магния с трилоном Б бесцветны и хорошо растворимы в воде, эквивалентную точку устанавливают по изменению окраски особых металлов-индикаторов (рМ — индикатор). Наиболее употребительным индикатором для определения суммы Ca^{2+} и одного Mg^{2+} является хромоген черный (или смесь хромогена черного с метилротом), для определения кальция — мурексид (лучше применять смесь мурексида с нафтолом зеленым или метиленовым синим).

Металл-индикатор образует с катионами металлов интенсивно окрашенное комплексное соединение, менее прочное, чем соединение этого катиона с трилоном Б. При пользовании методом обратного титрования вводится избыток трилона Б, поэтому образование окрашенного комплексного соединения катионов металлов с металл-индикаторами происходит только после того, как весь трилон Б будет оттитрован. В момент достижения эквивалентной точки окраска раствора изменится: она будет обусловлена окраской свободного индикатора. Трилонаты кальция и магния образуются лишь в щелочной среде. Поэтому определение их проводят в присутствии щелочного буфера. Гидроксильные ионы буфера обеспечивают определенную величину рН титруемого раствора и нейтрализуют ионы водорода, освобождающиеся при взаимодействии кальция и магния с трилоном Б.

Комплексометрическому определению кальция и магния мешает присутствие в растворе ионов меди, марганца, железа и алюминия. Мешающее влияние фосфатов можно устранить, применяя обратное титрование (см. табл. на стр. 337).

При определении этим методом кальция и магния сначала получают их сумму, затем — содержание кальция. Магний определяют по разности между этими величинами.

Прямое определение магния возможно лишь после выделения кальция из раствора.

Основные реактивы и посуда. 1. 1%-ный раствор $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Раствор можно хранить не более 5 дней (в испытуемую пробу при необходимости приливают по 2—3 капли раствора). Вместо сульфида натрия можно применять 0,1%-ный раствор диэтилдитиокарбамата натрия (по 1 мл). 2. 1%-ный водный раствор солянокислого гидроксиламина. 3. 0,1 и 0,01 н растворы трилона Б. 4. Дистиллированная вода, проверенная на содержание кальция, магния и меди. Стаканы химические емкостью 150—200 мл (целесообразно сделать метки с указанием объема в 50, 70 и 100 мл). 6. Бюретки. 7. Микробюретки на 5 мл. 8. Пипетки разные.

**Способы титрования для устранения влияния фосфатов
при комплексометрическом определении кальция и магния**

Ионы	Мешающее действие (в щелочной среде)	Допуст. конц. (в мг) в 50 мл титр. раствора	Устранение вредного действия	Примечание
Cu^{2+}	Ионы меди образуют с металлиндикаторами прочные соединения, не разрушаемые трилоном Б	1	Добавление Na_2S или диэтилдитиокарбамата и разбавление	Нужно вводить указанные реактивы при анализе жмыхов, дрожжей (меди больше 10 мг/кг)
Mn^{2+}	Осадок двуокиси марганца адсорбирует индикатор, окраска становится серой	2,5	Добавление гидроксиламина и разбавление	Всегда добавляют гидроксиламин, который удерживает Mn в виде двухвалентного иона
Fe^{3+}	Гидраты окиси железа и алюминия адсорбируют индикатор и не позволяют установить эквивалентную точку	50	Добавление Na_2S и разбавление	В соответствии с методикой железо может оказать вредное действие только при содержании в кормах свыше 200 мг/кг
Al^{3+}		100	Разбавление	Алюминия в кормах мало

Проверяют дистиллированную воду на кальций и магний следующим образом: к 100 мл воды приливают 5 мл хлоридно-аммиачного буфера. При отсутствии кальция и магния раствор имеет синий цвет. В случае красно-фиолетовой окраски его титруют 0,01 н трилоном Б. Расход трилона на титрование не должен превышать двух капель.

Для проверки дистиллированной воды на медь к 10 мл приливают 1 мл 0,1%-ного раствора диэтилдитиокарбамата натрия, перемешивают пробу и наблюдают окраску. Желтоватый или золотисто-желтый цвет является признаком присутствия меди. При больших количествах меди окраска становится коричнево-желтой.

Реактивы на кальций: 1. Индикатор — смесь мурексида с нафтолом зеленым (0,25 г мурексида и 0,85 г нафтола зеленого тщательно растирают до состояния пудры со 100 г хлористого натрия х. ч. или ч. д. а.). 2. Индикатор мурексид (0,2 г мурексида растирают со 100 г хлористого натрия х. ч. или ч. д. а.). 3. Смешанный индикатор (смешивают 25 мл 0,02%-ного раствора

метилрога в 60%-ном спирте и 3 мл 0,1%-ного водного раствора метиленовой синьки). 4. 1 н раствор едкого натрия. 5. 0,001 или 0,1 н растворы хлористого или азотнокислого кальция.

Раствор хлористого кальция (0,01 н) готовят по следующей методике: 0,5 г CaCO_3 х. ч. или ч. д. а. высушивают в течение часа при 110° и помещают в высокий химический стакан емкостью 100—150 мл, в него наливают около 5 мл воды и 11 мл 1 н раствора соляной кислоты по каплям. По окончании реакции содержимое стакана нагревают до кипения и количественно переносят в мерную колбу емкостью 1 л. После охлаждения разбавляют раствор дистиллированной водой, доводя его до метки на колбе. Можно приготовить 0,1 н раствор (приблизительный) из $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ч. д. а. и установить его точную концентрацию обратным комплексометрическим титрованием, пользуясь 0,1 н раствором трилона. Раствор разводят на основании расчета до 0,01 н концентрации.

Реактивы на магний и сумму кальция с магнием: 1. 0,1 н или 0,01 н растворы сернокислого магния (1,235 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ х. ч. или ч. д. а. растворяют в мерной колбе емкостью 1 л и доводят дистиллированной водой до метки. Можно использовать фиксатив этой соли — 0,1 н и 0,01 н). 2. Хлоридно-аммиачный буферный раствор (20 г х. ч. NH_4Cl растворяют в 100 мл дистиллированной воды, приливают 100 мл 25%-ного раствора NH_4OH , разбавляют дистиллированной водой до 1 л и тщательно перемешивают, хранят в склянках с притертой пробкой). 3. Хромоген черный ЕТ-ОО (индикатор) сухой или в виде раствора. Сухую смесь хромогена черного ЕТ-ОО готовят из 1 г его и 100 г х. ч. NaCl , KCl или K_2SO_4 . Соль тщательно растирают в ступке, прибавляя в нее индикатор небольшими порциями, постоянно и тщательно перемешивая смесь пестиком. Сухой индикатор хранят в темной банке с притертой пробкой. Раствор индикатора готовят следующим образом: 0,5 г хромогена черного растворяют в 10 мл хлоридно-аммиачного буфера и доводят до 100 мл этиловым спиртом. Раствор хранят в темной склянке с притертой пробкой.

Определение кальция. 1. 5—10 мл раствора золы (в зависимости от содержания кальция) пипеткой наливают в стакан для титрования.

2. Добавляют 10—15 мл дистиллированной воды и 2—3 капли смешанного индикатора.

3. Нейтрализуют 1 н раствором едкой щелочи до изменения окраски раствора из красно-фиолетовой в зеленую.

4. Добавляют (точно) 10—25 мл 0,01 н раствора трилона Б¹.

5. Приливают 5—7 мл 1 н раствора едкой щелочи (10% к объему жидкости, чтобы в испытуемом растворе щелочь была в 0,1 н концентрации).

¹ При определении кальция в минеральных подкормках и комбикормах для птицы (навеска 5—10 г и $\gamma=100$ мл) применяют 0,1 н растворы соли кальция и трилона Б.

6. Вносят 0,5 мл 1%-ного раствора гидроксиламина и доводят объем раствора в стакане дистиллированной водой до метки 50—70 мл.

7. Перед титрованием прибавляют индикатор (около 0,12 г сухой смеси мурексида с нафтолом зеленым или 0,12 г смеси мурексида с хлористым натрием и 16 капель смешанного индикатора).

8. Избыток трилона оттитровывают 0,01 н раствором хлористого кальция до перехода синне-голубой окраски в фиолетово-розовую (сиреневатую). Титровать необходимо перед окном, просматривая окраску в проходящем свете. Надо учитывать, что яркий солнечный свет искажает окраску.

9. Одновременно ставят контроль с раствором трилона Б (без раствора золы) для проверки его по 0,01 н раствору хлористого или азотнокислого кальция.

Например: если на титрование 10 мл 0,01 н раствора трилона Б пошло 10,2 мл 0,01 н раствора хлористого или азотнокислого кальция, то считают, что на определение взято не 10 мл раствора трилона Б, а 10,2 мл (20 мл 0,01 н раствора трилона Б соответствуют 20,4 мл 0,01 н раствора кальция)

10. Рассчитывают количество кальция в корме по формуле:

$$x = \frac{(A - B) \cdot 0,2 \cdot V}{V_1 \cdot C}$$

где x — содержание кальция в корме мг/г (или г/кг);

A — объем 0,01 н раствора трилона Б, взятый для определения кальция;

B — объем 0,01 н раствора соли кальция, пошедший на титрование свободного (не связанного с кальцием корма) трилона Б;

0,2 — количество кальция в мг, соответствующее 1 мл 0,01 н связанного с кальцием корма раствора трилона Б;

V — общий объем раствора золы;

V_1 — объем раствора золы, взятого на анализ;

C — навеска корма, г.

Определение суммы кальция и магния. 1. Берут пипеткой 5 мл раствора золы в химический стакан емкостью 150—200 мл (стаканы с меткой на 50—70—100 мл).

2. Добавляют туда 10 мл дистиллированной воды.

3. Приливают 10—25 мл (точно!) 0,01 н раствора трилона Б.

4. Добавляют 2—3 капли индикатора метилоранжа и нейтрализуют (по каплям) раствором аммиака (1:1) до появления желтой окраски.

5. Приливают из бюретки 10 мл аммиачного буфера (20% к общему объему), 0,5 мл 1%-ного раствора гидроксиламина, доводят объем дистиллированной водой до 50 мл и вносят 10—12 капель 0,02%-ного раствора метилового красного.

6. Перед титрованием добавляют 5 капель хромогена черно-

го (металл-индикатор). Окраска становится зеленой. Если раствор красный, это свидетельствует о недостаточности трилона Б. Добавляют еще 5 или 10 мл этого раствора.

7. Избыток трилона оттитровывают 0,01 н раствором сернокислого магния до перехода окраски из зеленой в красно-фиолетовую. Перед концом титрования, когда появляется переходная серо-зеленая окраска раствора, добавляют еще 1—2 капли хромогена черного. Обычно результаты параллельных титрований совпадают в пределах 0,05—0,1 мл.

8. Одновременно с этим производят титрование одного трилона с добавлением всех необходимых реактивов и индикаторов. Вместо исследуемого раствора берут дистиллированную воду.

9. Из результатов титрования одного трилона вычитают результаты титрования исследуемого раствора. По разнице определяют количество раствора трилона Б (мл), связанное с кальцием и магнием. 1 мл 0,01 н раствора соответствует 0,1 миллиэквиваленту этих катионов.

10. Содержание магния рассчитывают по следующей формуле:

$$x = \frac{(A - B - K) \cdot 0,1216 \cdot V}{V_1 \cdot C},$$

где x — содержание магния в корме, мг/кг (та же величина остается для г/кг);

A — объем раствора трилона Б, взятый для определения суммы кальция и магния;

B — объем 0,01 н раствора сернокислого магния, пошедший на титрование избытка трилона Б;

K — объем 0,01 н раствора трилона Б, связанный с кальцием (данные берут из анализа кальция в таком же объеме раствора золы);

0,1216 — 1 мл связанного 0,01 н раствора трилона Б соответствует 0,1216 мг магния;

V — общий объем раствора золы, мл;

V_1 — объем раствора золы, взятый для определения суммы кальция и магния;

C — навеска корма, г.

Определение магния. 1. 25 мл раствора золы помещают в коническую колбу емкостью 100 мл и нагревают до кипения.

2. Для осаждения кальция добавляют 10 мл насыщенного щавелевокислого аммония, 2 капли метилового красного и нейтрализуют раствором аммиака (1:4).

3. Содержимое нагревают до кипения и охлаждают.

4. Раствор фильтруют в мерную колбу емкостью 50 мл (для отделения осадка щавелевокислого кальция). Объем в колбе доводят до метки дистиллированной водой (через фильтр).

5. Для определения магния берут 10 мл фильтрата (эквивалентного 5 мл раствора золы), добавляют 5—15 мл воды, 10—20 мл 0,1 н раствора трилона Б, 10 мл аммиачного буфера, 0,5 мл гидроксиламина, 2 мл концентрированного раствора аммиака (последний добавляется для подавления вредного влияния оксалата аммония на изменение окраски индикатора). Доводят объем в стакане водой до 50 мл.

6. К полученной смеси так же, как при определении суммы кальция, магния добавляют индикаторы и избыток трилона Б оттитровывают 0,01 н раствором соли магния.

7. Одновременно проводят титрование смеси 10—20 мл одного трилона, 2 мл насыщенного оксалата аммония и 10 мл дистиллированной воды (вместо исследуемого раствора) с добавлением всех необходимых для титрования растворов.

3. Из результатов титрования одного трилона (А) вычитают результаты титрования исследуемого раствора (Б).

По разнице результатов титрования (связанный трилон) рассчитывают содержание магния по формуле:

$$x = \frac{(A - B) \cdot 0,1216 \cdot V}{V_1 \cdot C}$$

Комплексометрическое определение содержания кальция в молоке (экспресс-метод по А. Ф. Арсеньеву). Необходимые реактивы указаны на стр. 338.

Ход определения. 1. 2 мл молока помещают в химический стакан емкостью 150—200 мл.

2. Добавляют 20 мл 0,01 н раствора трилона Б, 25 мл дистиллированной воды, 5 мл 1 н раствора NaOH и смесь мурексида с нафтоловым зеленым в хлористом натрии (на кончике шпателя 0,12—0,15 г). Общий объем должен составлять 50 мл. Содержимое стакана должно приобрести серо-голубую окраску. Если она розовая, значит трилона добавлено недостаточно. В этом случае следует взять 1 мл молока или больше трилона.

3. Избыток трилона оттитровывают из бюретки на 20—25 мл 0,01 н раствором соли кальция до появления устойчивой розовой окраски. Титрование повторяют не менее двух раз.

4. Ставят контроль с трилоном Б (без молока).

5. Рассчитывают содержание кальция в молоке по формуле:

$$x = \frac{(A - B) \cdot 0,2}{V},$$

где x — содержание кальция в 1 мл молока, мг (та же величина остается для выражения содержания кальция в г/л);

А — объем 0,01 н раствора трилона Б, взятый для определения кальция в молоке;

Б — объем 0,01 н раствора соли кальция, мл, пошедший на титрование свободного трилона Б, не связавшегося с кальцием молока;

0,2 — количество кальция (мг), соответствующее 1 мл 0,01 н раствора;

V — количество молока (мл), взятое на анализ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ, ПО БРИГСУ С ИЗМЕНЕНИЯМИ В. Я. ЮДЕЛОВИЧА

Принцип определения. Белки осаждаются трихлоруксусной кислотой. Кислоторастворимый и неорганический фосфор переходят в раствор. Неорганический фосфор реагирует с прибавленным молибденовокислым аммонием. Образующееся комплексное соединение (фосформолибденовая кислота) восстанавливается гидрохиноном в присутствии сернистокислого натрия. Восстановление сопровождается синим окрашиванием.

Параллельно и точно таким же образом обрабатывают стандартный раствор фосфора определенной концентрации и колориметрическим сравнением определяют концентрацию фосфора в исследуемом материале.

Реактивы. 1. Стандартный раствор фосфора: берут 4,394 г одиометаллического, предварительно высушенного в эксикаторе фосфорнокислого калия (KH_2PO_4), смешивают с дистиллированной водой (до 1 л). Из этого раствора берут 1 часть и смешивают с 49 частями дистиллированной воды. К обоим растворам прибавляют несколько капель хлороформа. Второй раствор содержит 0,02 мг фосфора в 1 мл (стандартный).

2. Раствор карбонат-сульфита: сначала берется безводного углекислого натрия 40 г, дистиллированной воды до 200 мл, затем сернистокислого натрия 7,5 г, дистиллированной воды до 50 мл. Оба раствора смешивают и фильтруют.

3. Раствор гидрохинона (1 г гидрохинона + 99 мл дистиллированной воды). К 100 мл 1%-ного раствора гидрохинона прибавляют 1 каплю крепкой серной кислоты.

4. 20%-ный раствор трихлоруксусной кислоты (хранить на холоде).

5. Раствор молибденовокислого аммония: берется молибденовокислого аммония 25 г, дистиллированной воды 300 мл; концентрированной серной кислоты 75 мл, дистиллированной воды 125 мл. Оба раствора смешивают.

Ход определения. А. Осаждение белков. В пробирку вводят 1 мл сыворотки крови, прибавляют 3 мл воды и 1 мл раствора трихлоруксусной кислоты. Хорошо взбалтывают и оставляют на несколько минут. Затем жидкость фильтруют через хороший бумажный фильтр (не содержащий растворимых фосфатов).

Б. Цветная реакция. Проводится в пробирках с меткой

на уровне 6 мл. В две такие пробирки вводят (по возможности одновременно) следующие реактивы¹, мл:

	Опыт	Стандарт
Фильтрат сыворотки или крови	2,5	—
Стандартный раствор фосфора	—	1
Дистиллированная вода	—	1
Раствор трихлоруксусной кислоты	—	0,5
Раствор молибдена	0,5	0,5
Раствор гидрохинона	0,5	0,5
Раствор карбонат-сульфита по каплям ¹	2	2
Дистиллированную воду	до 6	до 6

Содержимое пробирок хорошо размешивают и через 10 мин. колориметрируют. Вычисление производят по формуле:

$$x = \frac{H_2 \cdot 0,02}{H_1},$$

где x — концентрация исследуемого раствора;

H_2 — высота столба стандартного раствора;

0,02 — концентрация стандартного раствора, мг/мл;

H_1 — высота столба исследуемого раствора.

Исследуемый раствор и стандарт разведены одинаково.

X — количество фосфора, соответствующее 0,5 мл сыворотки. В 100 мл сыворотки фосфора в 200 раз больше.

ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ, ПО БРИГСУ (в модификации А. Т. Усовича)

Принцип метода. К определенному объему сыворотки крови для осаждения белков прибавляют трихлоруксусную кислоту. При этом в раствор переходит кислоторастворимый и неорганический фосфор. Затем прибавляют молибденовокислый аммоний, который образует комплексное соединение с неорганическим фосфором — фосформолибденовую кислоту. При восстановлении полученного соединения гидрохиноном в присутствии сульфита натрия возникает комплексное соединение другого состава, имеющее синюю окраску. Интенсивность этой окраски зависит от концентрации фосфора в исследуемой пробе сыворотки крови.

Оптическую плотность окрашенного раствора измеряют с помощью фотоэлектроколориметра с применением красного светофильтра (с областью пропускания 650—700 мкм); пользуясь калибровочной кривой, находят количество фосфора в исследуемой пробе сыворотки крови, выражаемое в мг%.

Ход определения. 1. В пробирку отмеривают микропипеткой 1 мл сыворотки крови, прибавляют 3 мл дистиллированной во-

¹ Эти реактивы вводят через 5 мин.

ды и 1 мл раствора трихлоруксусной кислоты для осаждения белков.

2. Раствор хорошо перемешивают, оставляют стоять на несколько минут и затем фильтруют через беззольный бумажный фильтр, не содержащий фосфатов.

3. В пробирку (на которой отмечен объем в 6 мл) микропипеткой берут 2,5 мл полученного фильтрата, затем прибавляют 0,5 мл раствора молибденовокислого аммония, 0,5 мл раствора гидрохинона и оставляют ее на 5 мин.

6. После этого в пробирку добавляют, по каплям, 2 мл раствора карбонат-сульфита, дистиллированную воду до получения общего объема в 6 мл и раствор хорошо перемешивают.

5. Через 10 мин. измеряют оптическую плотность D окрашенного раствора и по калибровочной кривой сразу же находят содержание фосфора в исследуемой пробе.

Построение калибровочной кривой. 1. Берут пять пробирок, нумеруют их по порядку и в каждую вносят определенное количество перечисленных ниже реактивов, руководствуясь следующей таблицей:

Раствор	1	2	3	4	5
Стандартный раствор	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
Дистиллированная вода	2,0	1,5	1,0	0,5	0
Трихлоруксусная кислота	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Раствор молибденовокислого аммония	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Раствор гидрохинона	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Раствор карбонат-сульфита	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Содержание фосфора, мг%	2,00	4,00	6,00	8,00	10,00

2. Растворы хорошо перемешивают и через 10 мин. измеряют их оптическую плотность D на фотоэлектроколориметре с применением красного светофильтра.

3. По полученным значениям оптической плотности строят калибровочную кривую, откладывая на оси абсцисс значения концентрации фосфора в мг%, а на оси ординат — оптическую плотность. Масштаб необходимо брать таким, чтобы обе оси

были или равными или не слишком отличались одна от другой. Рекомендуется следующий масштаб: 0,01 D соответствует 2 мм на оси ординат, 1 мг% отвечает 20 мм на оси абсцисс. На калибровочной кривой должна быть указана дата ее построения, марка и заводской номер фотоэлектроколориметра и принятый масштаб.

При поступлении новой партии химических реактивов калибровочную кривую следует проверить по стандартным растворам, а в случае необходимости построить ее заново. Так же надо поступать и в случае ремонта прибора.

Реактивы. 1. Основной стандартный раствор однозамещенного фосфата калия KH_2PO_4 : на аналитических весах отвешивают 4,3940 г реактива, растворяют и доливают до метки в мерной колбе на 1 л (после приготовления раствор необходимо перемешать).

2. Рабочий стандартный раствор фосфата калия KH_2PO_4 : в мерную колбу на 100 мл микропипеткой берут 2 мл основного стандартного раствора, доливают до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. 1 мл полученного раствора содержат 0,02 мг фосфора. Этим раствором пользуются при построении калибровочной кривой.

3. Раствор карбонат-сульфита: а) 40 г безводного углекислого натрия растворяют и доводят до метки в мерной колбе на 200 мл; б) 7,5 г безводного сернистокислого натрия (сульфита натрия) растворяют в мерной колбе на 50 мл и доливают до метки дистиллированной водой. Если нет безводного сульфита натрия, можно взять 15 г сульфита, содержащего кристаллизационную воду. Оба раствора смешивают и фильтруют.

4. Раствор гидрохинона: 1 г растворяют и доливают до метки дистиллированной водой в мерной колбе на 100 мл. К раствору прибавляют одну каплю крепкой серной кислоты.

5. Трихлоруксусная кислота, 20%-ный раствор (хранят на холоде).

6. Раствор молибденовоокислого аммония: а) 25 г молибденовоокислого аммония растворяют в 300 мл дистиллированной воды; б) в 125 мл дистиллированной воды осторожно вливают 75 мл концентрированной серной кислоты.

Растворы а и б смешивают.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЛИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (по Крамеру и Тисдалю)

Калий осаждается из сыворотки крови азотисто-кобальтово-натриевым реактивом. Осадок отделяется центрифугированием и окисляется марганцовокислым калием в присутствии серной кислоты. Точность этого метода удовлетворительная.

Реактивы. 1. Основной реактив для определения калия готовят из двух растворов. Для первого раствора берется 25 г азотно-кислого кобальта $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 12,5 мл ледяной уксусной кислоты и 50 мл дистиллированной воды. Для второго раствора берется 25 г химически чистого азотистокислого натрия (NaNO_2) и растворяют в 180 мл дистиллированной воды. К первому раствору прибавляют 210 мл второго и через смесь с помощью вакуум-аппарата просасывают воздух до удаления оксидов азота, окрашенных, с характерным запахом. Полученный раствор-реактив хранится на льду, перед употреблением его необходимо фильтровать.

2. 20%-ный раствор серной кислоты. Этот раствор готовится из 20 мл концентрированной химически чистой серной кислоты H_2SO_4 и 80 мл дистиллированной воды.

3. 0,01 н раствор щавелевокислого натрия ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$).

4. 0,01 н раствор марганцовокислого калия (KMnO_4).

Последние два раствора готовят из основных 0,1 н и растворов, титр которых следует часто проверять.

Оборудование. Центрифужные пробирки, груша с пипеткой для отсасывания центрифугата, пипетки емкостью 1—2 и 5 мл, водяная баня, микробюретки емкостью 2 и 5 мл с делениями в 0,01 мл, 10—20-гнездная электроцентрифуга.

Ход определения. В центрифужную пробирку вводят 1 мл сыворотки крови, к ней медленно прибавляют 2 мл реактива на калий (1) и оставляют на 45 мин.; в центрифужную пробирку прибавляют 3 мл дистиллированной воды и центрифугируют до полного просветления 15 мин. при 3—4 тысячах оборотов в минуту.

Затем центрифугат (жидкость над осадком в центрифужной пробирке) осторожно отсасывается, а к осадку добавляется 3—4 мл дистиллированной воды и вновь центрифугируется. Такие операции повторяют 2—3 раза, до полного обесцвечивания центрифугата.

К полученному осадку прибавляется 2 или 3 мл 0,01 н раствора марганцовокислого калия и 1 мл 20%-ного раствора серной кислоты.

Смесь ставится в кипящую водяную баню на 90 сек., помещивается. Если она обесцветилась, прибавляют еще 2 мл 0,01 н раствора марганцовокислого калия и вновь ставят в водяную баню на 90 сек. После подогревания к смеси прибавляется точно отмеренное количество (3 мл или больше) 0,01 н раствора щавелевокислого натрия. В данном случае смесь должна обесцветиться.

Обесцвеченная смесь оттитровывается 0,01 н раствором марганцовокислого калия до появления не исчезающей в течение одной минуты розовой окраски.

Из всего израсходованного объема 0,01 н раствора марган-

щавелевокислого калия (прибавленного, если это было, и пошедшего на титрование) вычитают количество прибавленного щавелевокислого натрия, разность умножают на постоянный коэффициент 0,071. Полученный результат и есть количество калия в взятом объеме — 1 мл сыворотки крови. В 100 мл сыворотки калия будет в 100 раз больше.

МЕТОДИКА КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЛИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, ДРУГИХ ТКАНЯХ И ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВАХ, МОДИФИЦИРОВАННАЯ С. И. ВИШНЯКОВЫМ

Калий осаждается по Крамеру и Тисдалю в виде сложной соли калий-натрий-кобальт-нитрита. Количество нитрита в осадке устанавливают колориметрически согласно цветной реакции с сульфаниловой кислотой и нафтиламином. По количеству нитрита в пробе и стандарте судят о количестве калия.

Реактивы.

А. Реактив на калий: а) азотнокислый кобальт 25 г, ледяная уксусная кислота 12,5 г, бидистиллированная вода 50 мл, б) NaNO_2 химически чистый 120 г, бидистиллированная вода 180 мл. К раствору «а» прибавляют 210 мл раствора «б» и через смесь пропускают воздух до удаления окислов азота.

Б. Стандартный раствор калия. Точно взвешивают 0,2229 г химически чистого сухого сернистого калия и растворяют в бидистиллированной воде до 1 л. 1 мл раствора содержит 0,1 мг калия.

В. 0,2 н раствор сульфаниловой кислоты. 0,5 г сульфаниловой кислоты растворяют в 100 мл 30%-ного раствора уксусной кислоты (к 30 мл ледяной уксусной кислоты добавляют бидистиллированную воду до 100 мл).

Г. Раствор нафтиламина. Растворяют 0,5 г α - или β -нафтиламина в 100 мл 30%-ного раствора уксусной кислоты, приготовленной как указано выше. Раствор хранят на холоде в темной посуде.

Д. Бидистиллированная вода.

Ход определения. 1 мл сыворотки крови вводят в центрифужную пробирку с узким доньшком. К сыворотке добавляют 2 мл бидистиллированной воды по каплям и 2 мл реактива на калий (А).

В другую такую же пробирку вводят 2 мл стандартного раствора (Б), 1 мл NH_4OH и по каплям 2 мл реактива на калий. Пробирки оставляют стоять на 45 мин., периодически перемешивая содержимое.

Далее параллельно обрабатывают содержимое пробирок: центрифугируют до полного просветления (примерно 15 мин. при 1500 об/мин); осторожно отсасывают жидкость над осадком.

Для этого можно использовать пастеровскую пипетку, утолщенный конец которой соединен с грушей, а кончик тонкой частью загнут вверх.

К осадку добавляют 5 мл бидистиллированной воды, пробу центрифугируют и жидкость над осадком отсасывают. Эти операции повторяют до полного обесцвечивания жидкости над осадком (обычно 3 раза).

Осадок растворяют в 5 мл 0,2 н раствора NaOH, нагревая на водяной бане до кипения.

К раствору добавляют 5 мл воды; содержимое пробирки фильтруют через беззольный фильтр в 50-миллилитровую колбу; фильтр и пробирку промывают несколькими порциями бидистиллированной воды, которую сливают в колбу; доводят бидистиллированной водой содержимое колбы до 50 мл.

Берут 10 мл фильтрата и вводят в колбу на 100 мл, доводят содержимое колбы бидистиллированной водой примерно до 60—70 мл; прибавляют 2 мл раствора сульфаниловой кислоты (В) и 1 мл раствора нафтиламина (Г); содержимое хорошо перемешивают, доводят бидистиллированной водой до метки 100 мл; дают постоять 10 мин.; проба приобретает малиново-красный цвет, после чего ее колориметрируют.

При колориметрическом определении содержание калия (мг%) вычисляют по формуле:

$$\frac{0,2 \cdot 100 \cdot H_2}{H_1} \quad \text{или} \quad \frac{20 \cdot H_2}{H_1},$$

где H_1 — высота столба пробы,

H_2 — высота столба стандарта.

При электрофотоколориметрии используют зеленый свето-фильтр.

После озоления калия в коровьем молоке содержится 147,5 мг%, черном хлебе — 145 мг%, эритроцитах морской свинки — 368 мг%.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАТРИЯ И КАЛИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ ПЛАМЕННОЙ ФОТОМЕТРИИ (по А. Т. Усовичу)

Принцип метода. Разбавленную в 50—100 раз дистиллированной водой сыворотку крови животного с помощью распылителя в виде аэрозоля вводят в пламя газовой горелки пламенного фотометра. Спектральное излучение определяемого элемента выделяется интерференционным светофильтром и поступает на фотоэлемент, возникает фототок, величина которого зависит от концентрации данного элемента в растворе. Фототок измеряют

гальванометром и с помощью калибровочной кривой рассчитывают содержание определяемого элемента в сыворотке.

Описанная методика рассчитана на использование пропана с подачей воздуха. При температуре пламени пропан-воздух чувствительность прибора по кальцию очень низкая и малые концентрации его в сыворотке не оказывают влияния на определение натрия. В связи с этим отпадает необходимость в компенсации излучения кальция.

Определение натрия. Включают, настраивают и подготавливают к работе пламенный фотометр ФПФ-58, как это описано в разделе «Пламенная фотометрия», открывают заслонку, диафрагму ставят на положение 2,50 и включают светофильтр № 1.

Трубку распылителя погружают в дистиллированную воду, наливаю в стаканчик, и устанавливают стрелку гальванометра на нуль, вращая рукоятки грубой и тонкой настройки.

Берут один из стандартных растворов, которым пользовались при построении калибровочной кривой, наливают в стаканчик, опускают в него трубку распылителя и отмечают показание шкалы прибора. Если оно отклоняется от того показания шкалы, которое наблюдалось при построении калибровочной кривой, его приводят к прежней величине, вращая ручку переменной диафрагмы.

Пример. При построении калибровочной кривой для стандартного раствора, содержащего 6,4 мг Na в 100 мл, показание шкалы гальванометра составило 60 делений. При настройке прибора для очередных определений натрия показание шкалы 48 делений. Вращая ручку диафрагмы, устанавливают показание гальванометра снова на 60- делений. Ткую проверку прибора по стандартным растворам следует повторять через каждые 5—10 определений.

Микропипеткой берут 0,5-мл сыворотки крови, вливают в коническую колбу или стакан на 50—100 мл, прибавляют пипеткой 24,5 мл дистиллированной воды (т. е. разбавляют сыворотку крови в 50 раз) и хорошо перемешивают.

В стаканчик наливают 5—8 мл разбавленной сыворотки, погружают в нее трубку распылителя и через 30—40 сек. делают отсчет по шкале прибора.

Трубку распылителя на 1 мин. погружают в дистиллированную воду. При этом световой указатель микроамперметра возвращается на нуль. Если этого не происходит, вращают ручку тонкой настройки. После этого приступают к следующему определению и т. д.

По показанию микроамперметра на калибровочной кривой определяют количество натрия в 100 мл разбавленной сыворотки крови (C_x), а затем рассчитывают содержание натрия в исследуемой сыворотке крови по формуле:

$$C_{Na} = 50C_x \text{ мг\%,}$$

где 50 — разбавление сыворотки крови животного.

Определение калия. Вращая рукоятку светофильтров пламенного фотометра ФПФ-58, включают светофильтр № 4.

Настраивают прибор по одному из стандартных растворов, применявшихся при построении калибровочной кривой.

В дальнейшем поступают так же, как и при определении натрия.

По показаниям микроамперметра на калибровочной кривой находят величину C_x , а затем рассчитывают содержание калия в исследуемой сыворотке крови по формуле:

$$C_k = 50 C_x \text{ мг\%,}$$

где C_x — количество калия в 100 мл разбавленной сыворотки, мг;

50 — разбавление сыворотки крови.

Приготовление серии стандартных растворов

Берут 5 мерных колб на 500 мл, нумеруют их по порядку и в каждую вносят определенное количество (мл) основного стандартного раствора, указанного в таблице:

Номера мерных колб на 500 мл	1	2	3	4	5
Количество стандартного раствора (мл)	4	8	12	16	20
Количество натрия в 100 мл C_{x_1} (мг)	3,2	6,4	9,6	12,8	16,0
Количество калия в 100 мл C_{x_2} (мг)	0,16	0,32	0,48	0,64	0,80

В колбы вносят по 100 мл 0,8%-ного раствора желатины (содержащей глюкозу и мочевины), доливают до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Растворы являются общими при построении калибровочных кривых для натрия и калия.

Построение калибровочной кривой для натрия. В пламенном фотометре включают светофильтр для натрия (1), наливают в стаканчик раствор № 5 и опускают в него трубку распылителя (аэрозоль раствора вводят в пламя горелки).

Регулируя давление газа (пропана), воздуха и раскрытие переменной диафрагмы, устанавливают световой указатель микроамперметра на 90 делений шкалы. Величины давления газа, воздуха и раскрытия диафрагмы записывают, строго придерживаясь их при фотометрировании серии стандартных растворов.

Приготовленные стандартные растворы поочередно фотомет-

рируют и для каждого из них записывают величину отклонения светового указателя микроамперметра.

В определенном масштабе на миллиметровой бумаге строят калибровочную кривую, откладывая на оси ординат отсчеты показаний микроамперметра, а на оси абсцисс — количество натрия (мг) в 100 мл раствора.

Построение калибровочной кривой для калия. В приборе включают светофильтр на калий (4), наливают в стаканчик раствор № 5 и опускают в него трубку распылителя (аэрозоль раствора вводят в пламя горелки).

Регулируя давление газа, воздуха и раскрытие переменной диафрагмы, световой указатель прибора устанавливают на максимальное отклонение, но с таким расчетом, чтобы он не вышел за пределы шкалы. Эти величины учитываются при фотометрировании серии стандартных растворов.

Приготовленные стандартные растворы поочередно фотометрируют и отмечают показания шкалы. На основе полученных данных на миллиметровой бумаге строят калибровочную кривую, откладывая на оси ординат отсчеты, а на оси абсцисс — количество калия (мг) в 100 мл раствора.

Реактивы:

1. Основной стандартный раствор. На аналитических весах отвешивают навески (г) следующих реактивов (марки х. ч.):

натрий хлористый NaCl — 10,1635;

калий хлористый KCl — 0,3824;

кальций хлористый $\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ — 0,6570;

магний сернокислый $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2110;

аммоний фосфорнокислый;

двухзамещенный $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ — 0,1280.

Реактивы растворяют в указанной последовательности в мерной колбе на 1 л, доливают до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. 1 мл основного стандартного раствора содержит 4 мг натрия и 0,2 мг калия.

2. Раствор желатины, содержащий в 1 л 8 г желатины, 0,2 г глюкозы и 0,06 г мочевины. Приготовление: на технических весах отвешивают 8 г желатины, кладут в стакан, приливают 100 мл дистиллированной воды и оставляют на ночь для набухания желатины. Затем нагревают содержимое стакана на водяной бане до полного растворения желатины. Раствор переносят в мерную колбу на 1 л, приливают 300—400 мл дистиллированной воды и добавляют 0,2 г глюкозы, 0,06 г мочевины и перемешивают до растворения прибавленных реактивов. После этого раствор доливают до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Основной стандартный раствор, рабочие стандартные растворы (применяемые для построения калибровочных кривых и настройки прибора) и раствор желатины сохраняют в темноте и на холоде.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ¹

Принцип метода. Определение основано на том, что при взаимодействии находящихся в растворе ионов трехвалентного железа с роданистым аммонием образуется комплексное соединение, в связи с чем раствор становится красным. Интенсивность окрашивания зависит от концентрации железа в растворе. Чтобы избежать ослабления окраски ионами хлора в солянокислом растворе, применяют избыток роданистого аммония. Методика требует обязательного перевода железа в трехвалентную форму, что достигается обработкой раствора золы 30%-ной перекисью водорода (стр. 225).

Ход определения. Пипеткой берут 1 мл раствора в пробирку, прибавляют 0,2 мл 25%-ного роданистого аммония и 0,8 мл дистиллированной воды. К раствору добавляют 1 каплю 30%-ной перекиси водорода и перемешивают.

Раствор наливают в кювету фотоколориметра и сразу же измеряют оптическую плотность (D), применяя синий светофильтр.

По калибровочной кривой находят количество железа (mg) в 100 мл раствора, затем рассчитывают содержание железа ($mg\%$):

$$x = \frac{C_x \cdot V_4 \cdot V_2}{V_1 \cdot V_3},$$

где C_x — количество железа в 100 мл раствора, найденное по калибровочной кривой, mg ;

V_1 — объем сыворотки крови, взятый для озоления, $мл$;

V_2 — объем раствора золы, $мл$;

V_3 — объем раствора золы, взятый для определения, $мл$;

V_4 — объем фотоколориметрируемого раствора, $мл$.

При подстановке в формулу числовых значений получается удобная для расчетов рабочая формула: $X_{Fe} = 5C_x$.

Построение калибровочной кривой и приготовление растворов изложено в описании методики определения железа в кормах, органах и тканях животных.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОКОЛИЧЕСТВ СЕЛЕНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ²

Принцип метода. В основу положена реакция с 3—3' — диаминобензидином. В этой реакции две молекулы селенистой кислоты (H_2SeO_3) реагируют с одной молекулой 3—3' — диаминобензидина (ДАБ), в результате чего образуется новое вещество диазоселенол, имеющее желто-зеленую окраску. Диазо-

¹ Роданидный метод модифицирован и обработан А. Т. Усовичем применительно к анализу сыворотки крови животных.

² Методика, применяемая Читинским опорным пунктом ВИЭВ.

селенол хорошо экстрагируется толуолом при pH среды 6—7. Мешающее влияние ряда элементов (меди, железа и др.) устраняется муравьиной кислотой и этилендиаминтетрауксусной кислотой.

Диазоселенол в толуоле обладает интенсивной желто-зеленой флуоресценцией, благодаря чему чувствительность определения селена возрастает. По исследованиям В. В. Ермакова, чувствительность флуорометрического определения селена составляет 0,05 мкг или 0,00005 мг, что констатируется визуально.

Для возбуждения флуоресценции используются линии ртути в 340 и 420 мμ, причем линия в 420 мμ используется для определения селена в количестве от 0,05 до 0,5 мг, в 340 мμ — для более высоких концентраций.

Подготовка материала к исследованию и процесс разрушения. Для определения селена в органах и тканях животных берут не менее 10 г. Материал должен быть свежим, так как при хранении часть селена теряется. Отобранный материал измельчается и заливается хлорной кислотой (52%-ная HClO₄) из расчета 1,5 мл на каждый грамм навески, т. е. при навеске в 10 г берут 15 мл хлорной кислоты и добавляют 15 мл воды. Залитый материал оставляют до следующего дня.

Разрушают материал на слабонагретой плите с большим количеством витков электроспираль. Дают материалу обуглиться, что видно по почернению смеси, испаряют $\frac{2}{3}$ воды, затем добавляют перекись водорода (30%-ная H₂O₂), вначале по несколько капель, а затем по 2—3 мл.

Разрушение считается законченным, когда в стакане выпадают хлораты калия и натрия, и по просветлению всей массы.

Для определения селена в волосах, коже и роговых образованиях используют не хлорную, а серную кислоту (уд. вес 1,84) из расчета 1,5 мл H₂SO₄ и 1,5 мл воды на каждый грамм материала. Навеску в этом случае берут в 5 г. Разрушение идет аналогично.

При определении селена в кормах обычно берут 10 г воздушно-сухого материала, т. е. высушенного при комнатной температуре, заливают 30 мл серной кислоты и 30 мл воды. Разрушение ведется на следующий день с перекисью водорода.

Фильтрование. После разрушения органов или тканей с хлорной кислотой раствор фильтруют в стакан на 200 мл через стеклянную вату, затем обмывают стенки стакана 15 мл воды и 30 мл соляной кислоты (концентрированной) и присоединяют к фильтрату.

При разрушении материала серной кислотой в колбу или стакан с разрушенным материалом добавляют равное количество воды (15 мл), дают остыть и затем фильтруют через бумажные фильтры. После фильтрования добавляют в фильтрат 30 мл концентрированной соляной кислоты.

При разрушении растительных материалов поступают аналогично, только воды берут 30 мл, соляной кислоты — 60.

Осаждение селена. В подготовленные таким образом растворы вводят в виде коллектора мышьяк (2 мл раствора, содержащего 1 мг/мл мышьяка), на кончике ножа медного купороса, 1—2 г фильтробумажной массы и все тщательно перемешивают.

Ставят пробы на горячую плитку, нагревают до 80° и добавляют сухой гипофосфит натрия, по 1—2 г до восстановления мышьяка. Раствор вначале обесцвечивается, затем начинает темнеть. Дают смеси закипеть, а бумажной массе распасться, для чего растворы помешивают. После этого пробы должны стоять не менее 6 час.; но лучше оставлять их до следующего дня.

Выделение селена на фильтре. Селен, содержащийся в растворе и осажденный гипофосфитом натрия вместе с мышьяком, коагулированный бумажной массой, отфильтровывается. Для фильтрования удобно использовать воронки диаметром 5 см и фильтры из красной ленты.

После фильтрования декантируют остатки водой (по 10—20 мл) и промывают фильтр с осадком 3—4 раза горячей 3%-ной соляной кислотой порциями по 5 мл. Затем промывают фильтр 4—5 раз водой по 5 мл.

Растворение селена на фильтре. Элементарный селен, находящийся на фильтре, переносят с воронкой в колбы на 100 мл, куда предварительно наливают 2 мл серной кислоты (1:1). Растворяют селен 5 мл горячей смеси кислот (к 100 мл концентрированной азотной кислоты добавляют 2 мл соляной). Фильтры при этом становятся белыми, а фильтрат — желтоватым от выделившейся двуокиси азота (NO_2). Промывают фильтры небольшим количеством воды и ставят колбы на горячую плиту для освобождения от азотной кислоты. Это длится до появления первых тяжелых паров серной кислоты. Колбы снимают, добавляют 2 капли перекиси водорода, дают остыть, наливают по 5 мл воды, обмывая стенки колб, и добавляют 1 каплю этанола.

Затем всё снова ставят на плитку и процесс повторяют. При появлении первых порций паров серной кислоты колбы снимают и, если раствор имеет темный цвет, добавляют 1—2 капли перекиси водорода. К остывшему раствору добавляют 20 мл воды.

Определение селена. Во все растворы вводят по 2 мл 2,5 н муравьиной кислоты, 3 мл 0,1-молярного раствора трилона Б, каждый раз перемешивая раствор. Добавляют 3—4 капли м-крезол-пурового и 2,5 мл 25%-ного раствора нашатырного спирта. Раствор приобретает при этом карминовый цвет. Затем по каплям добавляют нашатырный спирт до получения ясно-желтого цвета. После этого вводят 2 мл 0,5%-ного раствора 3—3'-диаминобензида, 10 мл воды и оставляют стоять на час.

Затем добавляют по каплям аммиак до перехода цвета индикатора в слабо-фиолетовый. Сливают раствор в делительную воронку на 100 мл, наливают 10 мл толуола и энергично

встряхивают раствор в течение 30 секунд. Органический слой сливают в пробирку, куда добавлено небольшое количество безводного хлористого кальция. Встряхивают содержимое пробирки для обезвоживания экстракта.

Одновременно готовят серию стандартных растворов селена в концентрации: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 γ . Для этого в ряд мензурок наливают по 2 мл серной кислоты, разведенной дистиллированной водой (1 : 1), 20 мл воды и стандартный раствор селена, содержащий 2 γ /мл селена, т. е. 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 мл. Содержимое взбалтывают, а затем добавляют муравьиную кислоту, трилон Б и другие реактивы, как описано выше.

После экстракции диазоселенола проводят флуорометрическое определение селена методом стандартных шкал.

При первом варианте в колориметрические пробирки из бесцветного стекла и с плоским дном наливают 8 мл экстракта стандартов (т. е. от 0,2 до 1,0 мг Se), а в одну наливают экстракт исследуемой пробы.

Включают ртутно-кварцевую лампу и освещают экстракты под углом 60°. Сравнивают желто-зеленую окраску проб и стандартов, глядя сверху и на белом фоне. Если окраска лежит между двумя соседними эталонами, то берут среднее их значение.

Расчет. Допустим, что взята навеска ткани в 10 г. При проведении анализа нашли, что окраска экстракта пробы больше стандарта в 0,2 γ и меньше 0,4 γ . Следовательно, берем среднее значение — 0,3 γ , т. е. в 10 г пробы содержится 0,3 γ селена. 1 γ —1 мкг=0,001 мг. Для выражения результата в мг на 100 г свежей ткани полученный результат умножают на 10 и делят на 1000:

$$\frac{0,3 \cdot 10}{1000} = 0,003 \text{ мг/100 г.}$$

При определении селена в 10 мл крови результат умножают на 10 и получают содержимое селена в мг%, т. е. количество миллиграммов селена в 100 мл крови.

Объективное определение селена на флуорометре типа ФМ-1. Экстракт, содержащий диазоселенол, помещают в кювету флуорометра, предварительно включив ртутно-кварцевую лампу ДРС-50 на 10 мин. В первичном блоке светофильтров устанавливают светофильтр УФС-3 для срезания видимой части спектра. Свет флуоресценции, возникающий в кюветке с раствором, проходит через один из шестнадцати интерференционных светофильтров *тах* пропусканий — 579 $m\mu$ и попадает на катод фотоэлектронного умножителя ФЭУ-20.

Вторичные узкополосные светофильтры обеспечивают выделение части спектра, характерной для исследуемого вещества. Напряжение, развиваемое на нагрузочном сопротивлении фотоумножителя, усиливается резонансным усилителем, настроен-

ным на частоту пульсаций светового потока (100 гц) и после детектирования поступает на стрелочный микроамперметр типа М-24 или М-91/А. Установка нуля прибора осуществляется с помощью компенсирующего напряжения, прикладываемого к измерительному прибору. Шкала прибора имеет относительную оцифровку с двумя пределами чувствительности.

Искомая концентрация определяется по формуле, в которую входят показания прибора с эталонными и исследуемыми растворами, т. е. строят график зависимости концентрации селена как функции показаний микроамперметра.

ХИМИЧЕСКИЕ

ВЗЯТИ

Средняя концентрация
в чистом виде
можно пользоваться
каждого образца
статистическим
и до 2-х
от 6-х
суде.
Можно д
мать, для ч
составляют их ср
каждые 3-4
10 капель 40
1-15 секунд
тья опре
и тоном
ая. Ф
растворя
ность опр
изменение

ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЛОКА¹



ХИМИЧЕСКИЙ анализ молока имеет для профилактики нарушения обмена веществ такое же значение, как и химический анализ крови и других органов и тканей животных.

ВЗЯТИЕ И ХРАНЕНИЕ ПРОБ МОЛОКА

Средняя проба молока (200—250 мл) берется сразу же после дойки в чистую стеклянную посуду. При отборе средней пробы можно пользоваться мерным цилиндром, отмеривая им из каждого бидона 15—20 мл хорошо перемешанного молока, или металлическим пробником. Пробник опускают в бидон с молоком до дна, верхнее отверстие закрывают пальцем и так набирают столб молока, высота которого равна уровню молока в сосуде.

Молоко долго не сохраняется, поэтому его нужно консервировать, для чего применяют разные консерванты, причем добавляют их сразу при взятии пробы, а при хранении — через каждые 3—4 суток. Например, на литр молока добавляют 8—10 капель 40%-ного формалина. Срок хранения такого молока 10—15 суток. Однако в молоке, консервированном формалином, нельзя определять белок, а также кислотность титрометрическим методом, так как она при добавлении формалина увеличивается. Формалин с белком образует соединение, которое трудно растворяется в серной кислоте и тем самым влияет на правильность определения белков. При консервировании формалином в молоке нельзя определить и сахара.

¹ См. методические указания, изданные Всесоюзным институтом животноводства в 1959 г.

При консервировании двухромовокислым калием добавляют 1 г этого порошка или 20 мл 10%-ного раствора его на 1 л молока. Такое молоко сохраняется 10 суток.

Пробы молока, предназначенные для определения сахара, казеина и альбумина, консервировать не рекомендуется, их следует хранить на холоде. Количество молока зависит от того, какие анализы намечено проводить. Кислотность, свертываемость, концентрацию водородных ионов, содержание витамина С определяют в пробе, взятой от одной дойки (лучше утренней).

Казеин, альбумин, молочный сахар и плотность определяют в среднесуточной пробе молока, взятой при каждой дойке (в объеме пропорционально удою). Содержание жира, общего количества белка, витамина А, каротина, золы, кальция, фосфора и других элементов определяют в двухсуточной пробе.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛОТНОСТИ МОЛОКА (ГОСТ 3625—47)

Плотностью молока (d_{20}^{20}) называют отношение веса молока при температуре $+20^\circ$ к весу воды в том объеме при температуре $+4^\circ$. Ее определяют молочным ареометром — лактоденсиметром, градуированным при $20^\circ/4^\circ$, в цилиндре емкостью 250 мл, в который наливается хорошо перемешанное молоко до $3/4$ его объема.

Ареометр погружают в цилиндр и оставляют свободно плавать в молоке.

Температуру и плотность молока отсчитывают через 1—2 мин. после установления лактоденсиметра в неподвижном состоянии.

При отсчете плотности глаз должен находиться на уровне нижнего края мениска.

Если молоко во время определений имело температуру выше или ниже 20° , результат отсчета должен быть приведен к 20° , что делается по таблице, в которой плотность молока выражена в градусах лактоденсиметра, являющихся дробной частью плотности, увеличенной в тысячу раз.

Пример. Плотность молока 1,0305 соответствует $30,5^\circ$ лактоденсиметра.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ МОЛОКА

В колбу или стакан емкостью 100—200 мл отмеривают пипеткой 10 мл молока, прибавляют 20 мл дистиллированной воды и 3 капли 1%-ного раствора фенолфталеина, перемешивают и титруют из бюретки 0,1 н раствором NaOH или КОН до появления исчезающего в течение 1 мин. розового окрашивания. Отсчитывают по бюретке количество щелочи, мл, израсходованное на титрование молока.

Умножив количество израсходованной щелочи на 10, получают градус кислотности молока, который равен количеству миллилитров точно 0,1 н раствора едкого натрия или едкого калия, затраченных на нейтрализацию 100 мл молока. Свежее молоко в среднем имеет кислотность 18—19°.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРА В МОЛОКЕ (ГОСТ 5867—51)

Сущность метода заключается в том, что при смешивании молока с крепкой серной кислотой происходит растворение белков и других составных частей молока, а жир в присутствии изоамилового спирта при нагревании и центрифугировании выделяется в виде прозрачного жирового слоя.

В чистый жиरोмер (бутирометр) наливают простой или автоматической пипеткой 10 мл серной кислоты (уд. вес. 1,81—1,82) и осторожно, чтобы жидкости не смешались, добавляют точно 11 мл молока и 1 мл изоамилового спирта.

Жиरोмер закрывают сухой пробкой, обертывают полотенцем или чистой тряпкой и тщательно перемешивают содержимое. Затем жиरोмеры помещают в водяную баню пробкой вниз на 5 мин. при температуре 65—70°. Вынув из бани, их вставляют в патрон центрифуги узкой частью к центру, располагая симметрично. В случае нечетного числа жиромеров в центрифугу помещают один жиरोмер, наполненный водой. Закрыв крышку, центрифугируют 5 мин. со скоростью не менее 1000 оборотов в минуту.

Затем жиरोмеры вынимают из центрифуги и помещают в водяную баню пробкой вниз при температуре 65—70°. Через 5 мин. жиромеры вынимают и быстро отсчитывают жир.

Движением пробки вверх и вниз устанавливают нижнюю границу столбика жира на целом делении и от него отсчитывают число делений до нижней точки мениска столбика жира.

Показание жиромера соответствует количеству граммов жира в 100 мл молока. Объем 10 малых делений шкалы жиромера по ГОСТу 1962—50 соответствует 1 г жира в 100 мл молока.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА БЕЛКА В МОЛОКЕ

Отмеривают пипеткой точно 2 мл молока в колбу Кьельдаля, прибавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и 1—2 г смеси сернокислой меди и сернокислого калия (на кончике ножа).

Колбу нагревают вначале осторожно, во избежание вспенивания, затем производят сжигание в течение нескольких часов при слабом кипении жидкости. Если на стенках колбы остаются не окисленные черные частицы, их смывают на дно, осторожно

наклоняя колбу, или струей дистиллированной воды. Колбу нагревают до полного просветления жидкости.

Окончив сжигание, жидкость охлаждают, разбавляют осторожно дистиллированной водой, взбалтывают и переливают в дистилляционную колбу емкостью 500 мл. Колбу для сжигания несколько раз ополаскивают небольшими порциями воды, чтобы общее количество ее не превышало 250—300 мл.

Аммиак отгоняют на перегонном аппарате, как и при определении азота. В приемную колбу наливают 10 мл 0,1 н раствор серной кислоты, подставляя колбу так, чтобы конец перегонной трубки был погружен в раствор кислоты.

В дистилляционную колбу вначале прибавляют немного пемзы, нарезанной мелкими кусочками или в виде порошка, затем осторожно, держа ее в наклонном положении, приливают 30 мл 33%-ного раствора едкого натрия или калия. Приливать едкий натрий надо осторожно, а соединять колбу с перегонным аппаратом быстро во избежание потерь аммиака. Выделение и отгонка аммиака происходит только в щелочной среде, поэтому до приливания щелочи в колбу следует бросить кусочек лакмусовой бумаги, посинение которой укажет на достаточное количество NaOH; если бумажка не посинеет, следует добавить еще щелочи.

Соединив дистилляционную колбу с перегонным аппаратом, пускают в холодильник воду и начинают нагревать колбу. Перегонка аммиака продолжается около 30 мин., за это время перегоняют около 200 мл жидкости. Закончив перегонку, приемную колбу отнимают от аппарата, ополаскивают водой трубку и титруют жидкость 0,1 н раствором едкого натрия с метилротом в качестве индикатора.

Расчет ведут так: количество 0,1 н раствора щелочи (мл), израсходованной на нейтрализацию серной кислоты, вычитают из количества 0,1 н раствора серной кислоты (мл), отмеренной в приемную колбу для поглощения аммиака, разность умножают на 0,0014 (1 мл H_2SO_4 соответствует 0,0014 г азота) и получают количество азота во взятом для анализа молоке.

Зная количество азота в молоке, переводят его на белковое соединение, для чего найденное количество умножают на 6,45. Результаты выражают в процентах.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЗЕИНА

Для анализа берут 10 мл молока и прибавляют 90 мл воды, нагретой до 40—42°. К смеси по каплям, постоянно помешивая, прибавляют около 0,5 мл 10%-ной уксусной кислоты до полного выпадения казеина. После того, как весь осадок осядет на дно и прибавление капли уксусной кислоты не вызовет помутнения, осадок отфильтровывают через простой фильтр и промывают несколько раз водой. Осадок вместе с фильтром переносят в

колбу для сжигания, затем определяют азот описанным выше способом. Содержание казеина определяют, умножив найденное количество азота на 6,45.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРА В МОЛОКЕ

В мерную колбу на 200 мл отмеривают пипеткой 10 мл молока, разбавляют дистиллированной водой, прибавляют в колбу 4 мл раствора «а» жидкости Феллинга и через некоторое время добавляют 2,5 мл 1%-ного NaOH.

Реакция жидкости должна быть нейтральной по лакмусу. Объем жидкости в колбе доводят до метки и перемешивают. Выпадает осадок, который через 30 мин. отфильтровывают, используя складчатый фильтр.

Из полученного фильтрата берут 25 мл жидкости, что соответствует 1,25 мл молока, наливают в коническую колбу емкостью 100 мл, прибавляют туда же по 25 мл растворов «а» и «б» жидкости Феллинга и кипятят ровно 6 мин, считая с момента закипания жидкости.

За это время выпадает красный осадок закиси меди, жидкость тотчас же фильтруют через стеклянный фильтр при слабом отсасывании, стараясь не переносить осадок на фильтр. Оставшийся в колбе осадок несколько раз промывают горячей дистиллированной водой, пропуская жидкость через тот же фильтр.

Можно использовать и обыкновенный бумажный фильтр, подвергнутый предварительной обработке: 4—5 фильтров закладывают в воронку и заливают горячей водой (температура 80—90°). Сверху воронку закрывают стеклом. После стекания воды фильтр промывают еще 3—4 раза горячей водой.

К промытому осадку закиси меди приливают раствор железосаммиачных квасцов до полного растворения осадка (25—30 мл), после чего содержимое колбы выливают через тот же стеклянный фильтр и фильтруют в чистую сухую колбу. Колба с фильтратом и промывными водами удаляется до этого.

Жидкость фильтруют небольшими порциями при отсасывании, осторожно помешивая стеклянной палочкой для лучшего растворения попавших в фильтр частичек. Колбу из-под осадка закиси меди и фильтр несколько раз промывают горячей дистиллированной водой.

Весь полученный фильтрат титруют в той же колбе марганцовокислым калием до слабо-розовой окраски. 1 мл 0,1 н раствора KMnO_4 соответствует 6,36 мг меди.

Пример. На титрование израсходовано 12 мл 0,1 н раствора KMnO_4 . Умножая количество KMnO_4 на 6,36 и на 4, получаем количество меди (мг), соответствующее 5 мл молока (для титрования было взято 1,25 мл молока, а таблица для перечисления найденного количества меди на молочный сахар состав-

лена применительно к 5 мл молока, поэтому вводится множитель 4).

По таблице находят содержание молочного сахара в граммах в 100 мл молока.

Реактивы:

1. Жидкость Феллинга:

а) 69,25 г перекристаллизованной сернокислой меди растворяют в 1 л дистиллированной воды;

б) 346 г сегнетовой соли и 103,2 г NaOH растворяют в 1 л дистиллированной воды.

2. Раствор 10,2 г NaOH в 1 л дистиллированной воды.

3. 86 г железо-аммонийных квасцов растворяют в дистиллированной воде, прибавляют 25 мл концентрированной серной кислоты и доводят объем жидкости до 1 л.

4. 0,1 н раствор KMnO_4 (3,16 г KMnO_4 растворяют в мерной колбе на 1 л). Перед употреблением раствор должен стоять 12—14 дней.

Содержание молочного сахара
по восстановленной меди

Медь (мг)	Содержится сахара в 100 мл молока (г)	Медь (мг)	Содержится сахара в 100 мл молока (г)
270	4,01	295	4,41
271	4,02	296	4,42
272	4,04	297	4,44
273	4,05	298	4,46
274	4,07	299	4,47
275	4,09	300	4,48
276	4,10	301	4,52
277	4,12	302	4,52
278	4,13	303	4,53
279	4,15	304	4,55
280	4,17	305	4,57
281	4,18	306	4,58
282	4,20	307	4,60
283	4,21	308	4,61
284	4,23	309	4,63
285	4,25	310	4,65
286	4,26	311	4,66
287	4,28	312	4,67
288	4,29	313	4,69
289	4,31	314	4,71
290	4,32	315	4,72
291	4,34	316	4,74
292	4,36	317	4,75
293	4,37	318	4,77
294	4,39	319	4,78

Метр (мл)	Содержится сахара в 100 мл молока (г)	Метр (мл)	Содержится сахара в 100 мл молока (г)
320	4,80	337	5,07
321	4,81	338	5,08
322	4,83	339	5,10
323	4,85	340	5,12
324	4,86	341	5,13
325	4,87	342	5,15
326	4,89	343	5,16
327	4,91	344	5,18
328	4,93	345	5,19
329	4,94	346	5,20
330	4,95	347	5,23
331	4,97	348	5,24
332	4,98	349	5,26
333	5,00	350	5,27
334	5,01	351	5,29
335	5,03	352	5,31
336	5,05		

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУХОГО ВЕЩЕСТВА В МОЛОКЕ

Лабораторный метод определения сухого вещества в молоке, высушенном в сушильном шкафу, является наиболее распространенным.

Фарфоровую чашку с прокаленным песком и стеклянной палочкой сушат в сушильном шкафу при температуре 100—105° на протяжении 3—5 час.

После охлаждения в эксикаторе чашку взвешивают, наливают 10 мл молока, хорошо перемешивают с песком и ставят на кипящую водяную баню, непрерывно помешивая смесь.

Когда из молока испарится вся вода, чашку ставят в сушильный шкаф и сушат при температуре 100—105° до постоянного веса 3—5 час. После этого чашку охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

По разнице между весом чашки с песком, палочкой и молоком до и после сушки находят количество сухого вещества (г).

Количество сухого вещества в процентах вычисляют по формуле:

$$x = \frac{100 \cdot b}{a},$$

где b — вес сухого вещества, г;

a — навеска молока (для этого количество молока в мл умножают на его удельный вес), г.

Количество сухого молока можно определить и расчетным

способом, для этого нужно знать плотность и процент содержания в нем жира.

Формула для расчета:

$$x = \frac{4,8 \cdot ж + K}{4} + 0,5,$$

где x — количество сухого вещества в молоке (%),

$ж$ — количество жира (%),

K — плотность молока, выраженная в градусах молочного ареометра (по Кевену).

Зная процент жира и удельный вес молока в градусах ареометра, можно с помощью коэффициентов, предложенных Я. С. Зайковским, вычислить процентное содержание отдельных составных частей молока по формулам:

молочный сахар	$= (K + Ж) \cdot 0,135$
казеин	$= (K + Ж) \cdot 0,083$
альбумин	$= (K + Ж) \cdot 0,018$
зола	$= (K + Ж) \cdot 0,020$

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА В МОЛОКЕ

В прокаленный в муфельной печи, охлажденный в эксикаторе и взвешенный на аналитических весах тигель наливают 25 г молока и досуха выпаривают на водяной бане. Полученный остаток обугливают на слабом огне, а затем сжигают в муфельной печи или на сильном пламени до образования серовато-белого остатка золы. Тигель с золой охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Количество золы находят по разнице между весом тигля с золой и пустого.

Процент золы вычисляют по формуле:

$$x = \frac{100 \cdot в}{a},$$

где $в$ — вес золы, г;

a — вес молока, взятого для сжигания, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ И ФОСФОРА В МОЛОКЕ

Прокаленный тигель взвешивают, отмеривают в него 10—20 мл молока и вновь взвешивают. Разность между весом заполненного и пустого тигля составит навеску молока.

Молоко выпаривают досуха в сушильном шкафу при температуре 85—90°.

Сухой остаток озоляют в тигле при красном калении муфельной печи (1,5—2 час.).

Тигель охлаждают в эксикаторе, золу растворяют в 5 мл 10%-ной HCl .

Раствор переносят в мерную колбу на 50 мл, тигель ополаскивают 2—3 раза водой, сливаемой в колбу. Объем колбы доводят до метки, содержимое перемешивают.

Для определения Са в молоке в стакан на 50—100 мл точно отмеривают 10—20 мл вышеуказанного раствора, добавляют 3 капли метилрота (0,02%-ного спиртового раствора) и нейтрализуют раствор 10%-ным аммиаком до перехода розовой окраски в желтую, затем вновь подкисляют раствор 10%-ной уксусной кислотой до появления розовой окраски.

Раствор в стакане нагревают до кипения и прибавляют 10—25 мл кипящего 4%-ного раствора щавелевокислого аммония. Для осаждения стакан оставляют на 6 час., лучше на ночь.

Выпавший осадок щавелевокислого кальция отфильтровывают через обеззоленный фильтр, затем промывают водой до исчезновения следов хлора. После 5—6-кратного промывания под воронку подставляют пробирку с 2 мл воды и каплей 1%-ного раствора AgNO_3 , если появляется муть, то следует еще промыть осадок. Промытый осадок вместе с фильтром помещают в чистый стакан. Осадок растворяют в 15 мл горячей 10%-ной серной кислоты, воронку ополаскивают и сливают туда же.

Раствор нагревают до 80° и оттитровывают 0,1 н раствором KMnO_4 до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Расчет содержания Са в мг% делается по формуле:

$$x = \frac{A \cdot K \cdot 2,5(5) \cdot 100 \cdot 2}{b},$$

где A — количество 0,1 н раствора KMnO_4 (мл), пошедшее на титрование;

K — поправка на титр KMnO_4 ;

2,5 или 5 — степень разведения (50 мл : 20 мл = 2,5; 50 мл : 10 мл = 5);

2 — коэффициент пересчета на Са;

b — навеска молока.

Определение фосфора в молоке. Из смеси, полученной от растворения золы в колбе на 50 мл, отмеривают точно 1 мл и переносят в колбу на 100 мл.

В другую колбу на 100 мл отмеривают 2—4 мл стандартного раствора KH_2PO_4 (0,1 мг Р в 1 мл раствора).

В обе колбы последовательно вносят по 2 мл гидрохинона, молибденовокислого аммония, сернистокислого натрия.

Объем в обеих колбах доводят дистиллированной водой до метки, хорошо перемешивают, оставляют на 30 мин. За это время цвет жидкостей становится синим, интенсивность которого пропорциональна концентрации фосфора. Затем жидкости колориметрируют.

Стандарты устанавливают на 10 делений, потом находят такое положение стакана с испытуемым раствором, когда цвет полей будет одинаковым.

Содержание фосфора в мг% вычисляют по формуле:

$$x = \frac{C_1 \cdot V_1 \cdot H_1 \cdot 100}{V_2 \cdot a \cdot H_2},$$

где C_1 — количество фосфора в стандартном растворе мг;
 V_1 — общий объем минерализата (50 мл);
 V_2 — количество минерализата, взятого для исследования;
 a — навеска молока;
 H_1 — высота столба стандарта;
 H_2 — высота столба испытуемого раствора.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРА В МОЛОКЕ

10 мл молока, налитые в фарфоровую чашку, подкисляют концентрированной азотной кислотой; прибавляют 20—25 мл 0,01 н раствора азотнокислого серебра и 2—3 мл железоаммонийных квасцов. После этого избыток азотнокислого серебра оттитровывают 0,01 н раствором роданистого аммония. По количеству израсходованного азотнокислого серебра вычисляют содержание хлора во взятом объеме молока. 1 мл 0,01 н раствора азотнокислого серебра соответствует 0,000355 г хлора.

Реактивы: азотная кислота концентрированная (уд. вес 1,40), не содержащая хлора; 0,05 н раствор азотнокислого серебра; 0,05 н раствор роданистого аммония; насыщенный водный раствор железоаммонийных квасцов; 0,1 н раствор азотнокислого серебра; 0,1 н раствор роданистого аммония; 0,01 н раствор азотнокислого серебра; 0,01 н раствор роданистого аммония.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С В МОЛОКЕ

Среднее содержание активных форм аскорбиновой кислоты в свежесвыдоенном молоке составляет (по Г. Б. Давидову): в утреннем 8,8—18,6 мг/л, в вечернем — 10,4—22,8 мг/л.

В коническую колбу берут 50 мл молока, прибавляют 4 мл насыщенного раствора шавелевой кислоты. После взбалтывания приливают 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия, взбалтывают, дают постоять 10—15 мин. и фильтруют. Из фильтрата отмеривают 25 мл в другую коническую колбу и титруют из микробюретки 0,001 н раствором 2,6 дихлорфенолиндифенола. Количество раствора 2,6 дихлорфенолиндифенола (мл), пошедшего на титрование, умножают на 2,4 и получают количество краски, пошедшей на 50 мл молока.

1 мл 0,001 н раствора краски соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты.

Содержание витамина С в 100 мл молока определяют по следующей формуле:

$$X = a \cdot 0,088 \cdot 4,8,$$

где a — количество дихлорфенолиндифенола (краски), пошедшей на титрование;
 4,8 — расчет на взятые для анализа 100 мл молока.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ В МОЛОКЕ

Увеличение количества кетоновых тел в организме ведет к появлению их в молоке.

В хозяйствах Ленинградской, Челябинской областей и других местах неоднократно были зарегистрированы случаи появления кетоновых тел в молоке при далеко зашедших нарушениях обмена веществ на почве неправильного кормления. Подобные явления особенно часто наблюдаются при недостатке кобальта.

В пробирку берут 10 мл молока, прибавляют 5 г порошкообразного сульфата аммония (сернокислый аммоний), тщательно встряхивают до полного растворения порошка и добавляют 0,1 мл свежеприготовленного 5%-ного водного раствора нитропруссиды натрия, 2 мл концентрированного аммиака и опять встряхивают. Интенсивность окраски через 5 мин. дает следующие результаты:

1. Розовая, слабо-розовая — слабоположительная +
2. Ярко-розовая ++
3. Пурпурная +++
4. Интенсивно-пурпурная ++++.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРУЕМОЙ КИСЛОТНОСТИ СВЕЖЕВЫДОЕННОГО МОЛОКА (по А. А. Кабышу)

Определение кислотности свежесвыдоенного молока может служить показателем нарушения на ранней стадии фосфорно-кальциевого обмена у животных.

Титруемую кислотность молока очень легко и быстро можно определить в производственных условиях.

Принцип метода. Определение основано на титровании щелочью двух проб свежесвыдоенного молока в присутствии индикатора фенолфталеина. В одну из проб добавляют хлористый кальций, другую титруют без него. По разности кислотности обеих проб делают выводы о состоянии обмена веществ.

Ход определения. Для исследования берут свежесвыдоенное молоко, причем первые порции сливают. Молоку дают постоять 20—30 мин., а затем набирают пипеткой 10 мл и выливают в стакан. Пипетку ополаскивают 1—2 раза дистиллированной водой и сливают в стакан с пробой молока.

Для получения более точных данных берут 2—4 пробы молока, в стаканы добавляют по 3—4 капли фенолфталеина и по 1 мл 4%-ного раствора хлористого кальция, в остальные стаканы хлористый кальций не приливают.

Пробы молока поочередно титруют 0,1 н раствором едкого натра до слабо-розового окрашивания (не исчезающего в течение 1 мин.) и отмечают количество израсходованного при этом NaOH.

Каждый миллилитр 0,1 н NaOH, израсходованного на титрование 100 мл молока, соответствует одному градусу кислотности по Тернеру.

Пример. Допустим, что на титрование 10 мл молока израсходовано 1,8 мл 0,1 н NaOH, в таком случае на 100 мл молока будет израсходовано $1,8 \times 10 = 18$ мл. При переводе кислотности в градусы это составит 18° по Тернеру.

Оценка результатов определения кислотности

Взято молока (мл)	Израсходовано 0,1 н NaOH		Кислотность молока (°)		Разница кислотности молока без добавления и с добавлением CaCl_2 (T°)	Состояние здоровья
	проба без CaCl_2	проба с 1 мл 4% го раствора CaCl_2	без CaCl_2	с 4%-ным раствором CaCl_2		
10	1,8	2,5	18	25	8	Клинически здоровые
10	1,9	2,8	19	28	9	
10	2,1	3,1	21	31	10	Начальная стадия нарушения фосфорно-кальциевого обмена
10	и больше		и больше		и больше	
10	1,6	2,2	16	22	6	Тяжелая форма нарушения фосфорно-кальциевого обмена или отравление: чем меньше разница, тем тяжелее состояние ¹
10	и меньше		и меньше		и меньше	

¹ Диагноз уточняется, анализируются клинические и анамнестические данные.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРОТИНА В МОЛОКЕ (по Слесаревой)

В колбу емкостью 250 мл отмеривают 50—100 мл молока, прибавляют 30—40 мл 25%-ного водного раствора KOH, нагревают на водяной бане (при $70-80^\circ$) до полного растворения белков. Затем все это охлаждают, прибавляют 10 мл 96%-ного спирта и переливают в делительную воронку емкостью 0,5 л. Вливают в воронку 30 мл петролейного эфира (можно персгнанного бензина или серного эфира). Смесь осторожно взбалтывают.

Нижний слой (щелочной) сливают в другую делительную воронку и еще раз экстрагируют одним из указанных экстрагентов (30 мл).

Полученные вытяжки (верхний слой) сливают в одну делительную воронку и промывают несколько раз водой, пока она

не станет совершенно бесцветной. После этого вытяжки (экстракт) из воронки переливают в колбу.

В колбу насыпают свежeproкаленного сернокислого натрия (Na_2SO_4) 7—8 г для осушения (сгущения) экстракта ставят ее на нагретую водяную баню (без огня) для выпаривания, сгущения экстракта.

Определяют объем экстракта и колориметрируют в колориметре типа Дюбоска. Стандартным раствором служит 0,02%-ный раствор двуххромовокислого калия ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Окраска его равна 0,001%-ному раствору каротина.

Расчет каротина в мг% производится по формуле:

$$\frac{0,001 \cdot h \cdot C \cdot 100}{m \cdot h_1},$$

где h — высота столба стандартного раствора;

C — объем испытуемого раствора (экстракта);

m — объем молока, взятого для анализа;

h_1 — высота столба испытуемого раствора.

ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЧИ

ХИМИЧЕСКИЙ состав мочи животных характеризует физиологическое состояние их организма, а следовательно, уровень, кормления и режим содержания.

При неполноценном кормлении, как известно, нарушается обмен веществ. Химический состав мочи может служить показателем степени нарушения обмена веществ, а также основанием для устранения причин этого нарушения.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕАКЦИИ МОЧИ

Моча животных может быть кислой, щелочной и нейтральной или амфотерной.

Реакцию мочи можно определить при помощи синей или красной лакмусовой бумаги. Если смочить кислой мочой красную лакмусовую бумагу, то она не изменится в цвете, а синяя станет красной.

В щелочной моче синяя лакмусовая бумага не изменяется, а красная становится синей. Нейтральная моча не меняет цвета ни синей, ни красной лакмусовой бумаги. Более точно pH определяется с помощью pH-метра.

Моча травоядных имеет щелочную реакцию, плотоядных — кислую, всеядных — щелочную и кислую.

Животные	pH
лошадь	7,2—8,7
корова	7,7—8,7
теленки	7,0—8,3
свинья	6,5—7,8
коза	8,0—8,5
курица	5,0

Изменения состава мочи происходят при ацидозе и алкалозе. Они характеризуются следующими показателями:

При ацидозе

pH мочи около 4,5
 HCO_3^- — нет
увеличение хлоридов
увеличение кислотности
увеличение NH_3
уменьшение катионов
Na, K и др.
выраженный диурез

При алкалозе

pH около 7,8—9,5
 HCO_3^- — много
уменьшение хлоридов
моча щелочная
нет аммония
увеличение катионов Na,
K и др.
нет выраженного диу-
реза

Количественное определение кислотности мочи делается так: в небольшой химический стакан отмеривают 25 мл мочи, добавляют туда 15—20 г порошкообразного щавелевокислого калия, хорошо взбалтывают и титруют 0,1 н раствором КОН или NaOH до слабо-розового окрашивания в присутствии фенолфталеина (2—3 капли).

Для выражения кислотности мочи в соляной кислоте количество 0,1 н раствора КОН, пошедшее на титрование, умножают на 0,00365. Чтобы вычислить кислотность 100 мл мочи, полученный результат умножают еще на 4 (0,00365 — это количество HCl в граммах, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора NaOH или КОН).

Количественное определение щелочности — берут 25 мл мочи и титруют 0,1 н раствором HCl в присутствии 1%-ного раствора ализариновокислого натрия до желтого окрашивания.

При умножении количества 0,1 н раствора HCl, пошедшего на титрование, на 0,004 получают щелочность, выраженную в количестве едкого натра. Умножив это число на 4, получают щелочность 100 мл мочи (0,004 — это количество NaOH в г, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора HCl).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УДЕЛЬНОГО ВЕСА МОЧИ

Наливают в цилиндр мочу, дают пене отстояться или убирают ее фильтровальной бумагой. Определяют температуру мочи и опускают урометр. Когда он остановится на определенной высоте, по мениску отмечают деление и вносят поправку на температуру.

На каждые 3° выше 15 нужно прибавить одну единицу к последней цифре удельного веса, а при температуре ниже 15° убавить одну единицу на каждые 3° разницы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА АЗОТА В МОЧЕ

(по Кьельдалю)

В колбы Кьельдаля берут пипеткой 5 мл мочи, 20 мл концентрированной H_2SO_4 и 0,5 г кристаллической сернокислой

меди в качестве катализатора, вместо меди лучше использовать 30%-ную перекись водорода.

В дальнейшем все делается так же, как и при определении азота в кормах.

Одновременно в тех же условиях проводят контрольный опыт, только вместо мочи берут 5 мл дистиллированной воды.

Количество азота (г) в 100 мл мочи вычисляют по формуле:

$$x = \frac{0,0014 \cdot (A - B - C) \cdot 100}{v \cdot g}$$

где v — количество мочи, взятой для анализа, мл;

A — количество 0,1 н раствора H_2SO_4 , взятое в приемник мл;

B — количество 0,1 н раствора $NaOH$, пошедшее на титрование пробы, мл;

C — количество 0,1 н раствора $NaOH$, пошедшее на титрование слепого опыта, мл;

g — удельный вес мочи.

Если для определения азота применяют полумикрометод Кьельдаля, то мочи в кьельдалевскую колбу на 100 мл нужно взять 2 мл.

Для сжигания достаточно прибавить 7—8 мл крепкой H_2SO_4 , несколько кристалликов $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ и около 1 г K_2SO_4 . После охлаждения жидкость переносят в дистилляционную (перегонную) колбу и отгоняют аммиак водяным паром.

До перегонки в колбу прибавляют 8—10 мл дистиллированной воды и 10—12 мл 40%-ного раствора $NaOH$. В приемник берут 20—25 мл 1/50 н раствора H_2SO_4 и прибавляют 2—3 капли 0,1%-ного раствора метилрота. Обратное титрование производят тоже 1/50 н щелочью ($NaOH$ или KOH).

Количество азота определяют, учитывая, что 1 мл 1/50 н раствора кислоты соответствует 0,00028 г азота.

КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА И КЕТОНОВЫХ ТЕЛ В МОЧЕ

Определение белка. Белок в моче появляется только при патологических явлениях, она в таких случаях мутная. Моча, взятая для определения белка, должна быть совершенно прозрачной; если она мутная, ее нужно профильтровать.

Одним из точных и наиболее часто применяемых методов определения белка в моче является проба с сульфосалициловой кислотой.

В чистую пробирку наливают 5 мл прозрачной мочи или мочи после фильтрования, добавляют 8—10 капель 20%-ного раствора сульфосалициловой кислоты. Появление осадка муты или легкой опалесценции указывает на присутствие белка.

При появлении легкой опалесценции необходимо сравнить пробирку, в которой проводится определение, с пробиркой, в ко-

торую налита чистая моча без сульфосалициловой кислоты. Муть, полученная от присутствия белка, при нагревании увеличивается, муть растворимая может появиться и от присутствия альбумоз. Чувствительность этой реакции высокая.

Реактивы. 20%-ный раствор сульфосалициловой кислоты, 10 г которой растворяют в 40 мл дистиллированной воды, раствор необходимо хранить в темной бутылке, так как реактив малоустойчив. Для получения более устойчивого реактива растворяют 200 г сернокислого натрия (Na_2SO_4) и 50 г сульфосалициловой кислоты в мерной колбе и доводят водой до 1 л. При пользовании этим реактивом добавлять его нужно в равных объемах с мочой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЦЕТОНОВЫХ ТЕЛ

Под этим названием объединяются три соединения: ацетон, ацетоуксусная кислота и β -оксимасляная кислота, генетически тесно связанные между собой. В небольших количествах ацетоновые тела выделяются и при нормальном состоянии организма. Так, в моче лошади содержание их колеблется от 0,38 до 3,86 мг на 1 л, в моче коров — от 0,2 до 2,4 мг.

Значительное количество ацетоновых тел в моче — ацетонурию — наблюдают при длительном голодании, истощениях различного происхождения, диабете, а также при многих заболеваниях. При ацетонемии крупного рогатого скота находили до 12 мг ацетоновых тел на 1 л мочи. В значительно меньших количествах ацетоновые тела обнаруживали в моче коров при атониях преджелудков и продолжительных расстройствах желудочно-кишечного тракта.

Появление ацетоновых тел в моче при недостаточности углеводного питания указывает на накопление их в крови. Так, при родильном парезе содержание ацетона в крови крупного рогатого скота поднималось до 69 мг на 100 мл сыворотки (А. В. Синев). Ацетон может появляться в моче травоядных при обильном белковом кормлении, при белковой пище (мясной) у всеядных и плотоядных и при всяком распаде белков и жиров.

Ацетоуксусную кислоту обнаруживают реакциями с нитропруссиднатрием. Она дает такое же фиолетовое окрашивание, как и ацетон, но во много раз сильнее. Поэтому пробу с нитропруссиднатрием следует считать пробой на ацетоновые тела.

Проба Ланге с нитропруссиднатрием. К 5—10 мл мочи прибавляют 5—10 капель свеженасыщенного водного раствора нитропруссиднатрия и 1 мл ледяной уксусной кислоты. Затем осторожно по стенке пробирки настилают 2—3 мл водного раствора аммиака. В присутствии ацетоновых тел на месте соприкосновения жидкостей вскоре образуется фиолетовое или фиолетово-красное окрашивание (кольцо). Чем раньше появится кольцо и чем интенсивнее его окраска, тем больше в моче содержится ацетоновых тел.

Проба Либена с едким кали. К 10—15 мл мочи прибавляют несколько капель водного раствора йода в йодиде калия (люголевского раствора) и по каплям — 10%-ного раствора едкого кали. При наличии ацетона образуется мутный желтоватый осадок с характерным запахом йодоформа. Эту же пробу можно проводить и так: к 5 мл перегнанной мочи прибавляют 10 капель аммиака и затем 5 капель настойки йода, разведенной двойным количеством спирта. Образуется черный осадок йодистого калия. Этот осадок постепенно исчезает, и тогда обнаруживается желтоватый осадок йодоформа (рис. 64).

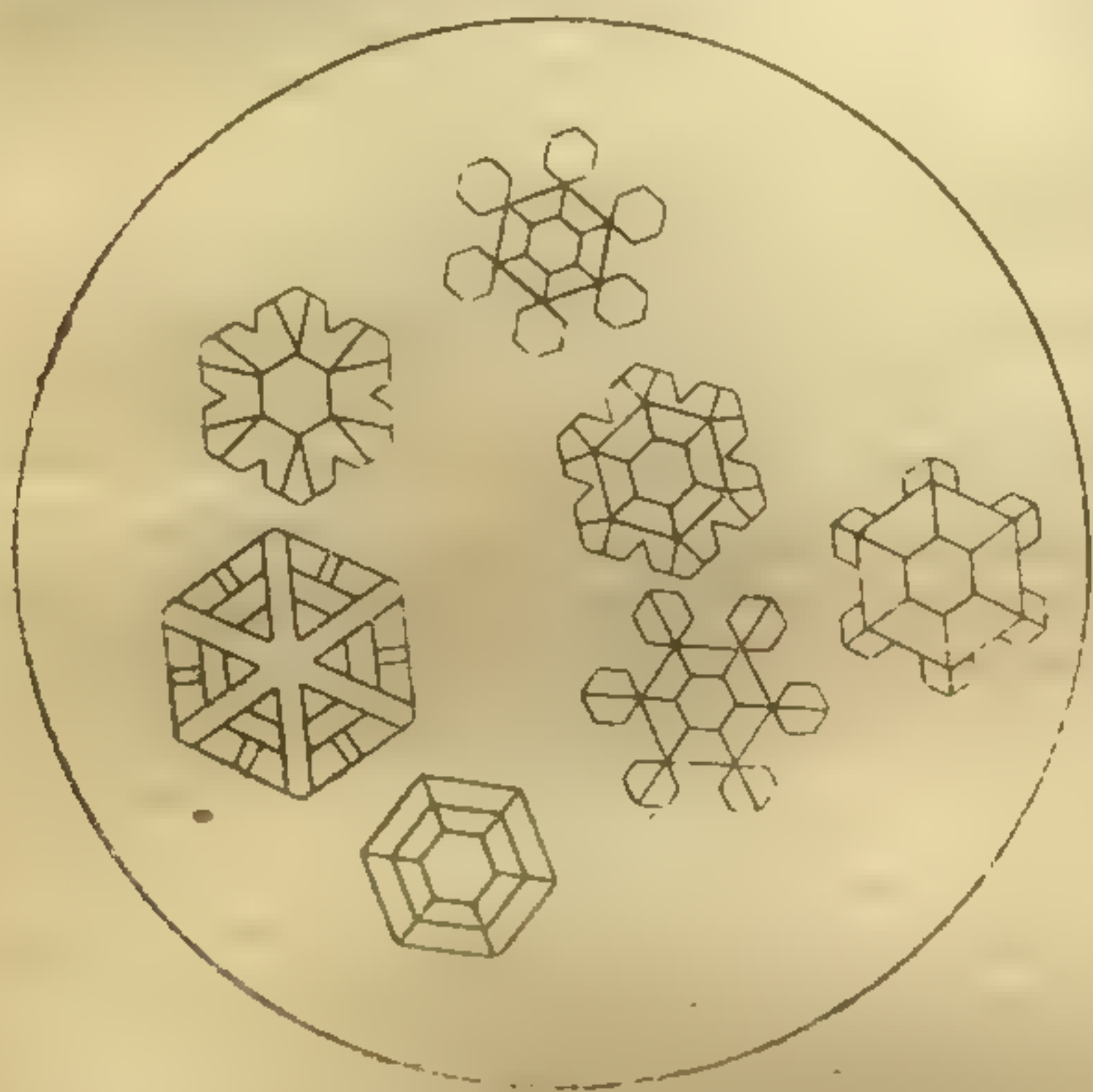


Рис. 64. Проба Либена при определении ацетона в моче (кристаллы йодоформа)

Проба Троммера с салицилальдегидом. К 15—20 мл мочи прибавляют несколько капель салицилальдегида и постепенно нагревают до 70°. В присутствии ацетона слой мочи над едким натром окрашивается в красный цвет.

Другой способ: к 15—20 мл мочи прибавляют 5 г сухого едкого кали и, не дожидаясь растворения, приливают 15—20 капель 10%-ного спиртового раствора салицилальдегида. Смесь нагревают до 70°.

При содержании ацетона в моче на границе двух жидкостей образуется красное кольцо.

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЦЕТОНА В МОЧЕ (по В. С. Новикову)

Для определения ацетона в моче рекомендуется предложенный Лестраде порошкообразный реактив следующего состава: нитропруссид натрия 1 г, сернокислый аммоний 20 г, углекислый натрий безводный 20 г.

Приготовление порошкообразного реактива. Отвешенные в указанной пропорции составные части помещают в ступку и

тщательно растирают до получения мелкого однородного порошка. Его можно хранить долгое время в обычной стеклянной банке в сухом месте.

На предметное стекло, помещенное на белый лист бумаги, наносят немного порошка (на кончике ножа) и добавляют 2—3 капли мочи. При наличии ацетона максимальное вишневое окрашивание наступает обычно через 1—3 минуты. Пробу считают отрицательной (—), если цвет мочи не изменяется; слабо положительной (+), если через 2—3 мин. появляется розовое окрашивание слабой интенсивности, положительной (++) — при отчетливой фиолетовой окраске, появившейся через 1—2 мин.; резко положительной (+++), если окрашивание появляется сразу же после нанесения мочи и через 1—2 мин. становится темно-фиолетовым.

Метод прост и доступен для выполнения в любых условиях.

Ляписная проба. На основании специально проведенных исследований установлено, что при смешивании мочи с водным раствором азотнокислого серебра (ляписа) образуется окрашенный осадок, не имеющий патологического значения, за исключением осадка черного цвета, который указывает на наличие в моче гистамина. Гистамин токсичен для организма. Образуется он в кишечнике, где появляется при аномалии кишечного брожения как продукт нуклеинового распада. Его появление бывает связано с понижением функции щитовидной и паращитовидной желез и поражением печени. Черный осадок не может служить диагностическим признаком какого-либо определенного заболевания, но считается показателем нарушения белкового обмена.

При исправлении рационов черный осадок при ляписной пробе мочи у коров исчезал.

Ход анализа. Берем в пробирку 2 мл испытуемой мочи, добавляем 1 мл 5%-ного водного раствора ляписа и осторожно кипятим в течение 2 мин. на газовой или спиртовой горелке. В результате появляется осадок. Черный осадок является показателем нарушения белкового обмена (+), коричневый и светлее — отрицательной реакции.

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ САХАРА В МОЧЕ

(Б. Ф. Коровкин, А. С. Канторович)¹

В последнее время за рубежом для быстрого определения сахара в моче стали применять специально приготовленные бумажки и таблетки. Нашим советским исследователям удалось подобрать соответствующую смесь реактивов, являющуюся полноценным заменителем этих препаратов.

¹ Ж. Лабораторное дело» 1961, № 10.

Выявлены следующие преимущества этой модификации:
а) смесь реактивов можно приготовить в любой лаборатории, чего нельзя сказать о производстве таблеток;

б) предложенная смесь сохраняется очень долго, таблетки же при соприкосновении с влажным воздухом разлагаются и становятся непригодными.

Реактивы. Берут 3 части безводной сернокислой меди, 35 частей виннокаменной кислоты, 1 часть двууглекислой соды, смешивают, растирают в ступке и сохраняют в банке, плотно закрытой резиновой пробкой. Второй реактив — едкое кали или едкий натр в гранулах.

Берут ряд пробирок с хорошо подогнанными резиновыми пробками и всыпают в каждую по 0,4 г обоих реактивов. Для упрощения расфасовки авторами изготовлена стеклянная мерка, вмещающая 0,4 г реактива 1.

В пробирку со смесью реактивов вливают 1 мл мочи. Вследствие экзотермической химической реакции содержимое пробирки закипает, и через минуту реакция заканчивается.

Оценку производят по развивающейся окраске: при отсутствии сахара в моче цвет раствора синий, при наличии сахара в количестве 0,2—0,5% появляется желтое окрашивание, 0,8—1,2% — красно-коричневое, 1,2—2% — коричнево-черное. Окраска сохраняется длительное время.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ (ВИТАМИНА С) В МОЧЕ

Содержание аскорбиновой кислоты в моче связано с количеством кислоты, введенной с кормом. Витамин С в организме участвует в окислительно-восстановительных процессах, при недостатке его у некоторых животных наблюдается расслабление десен.

Наиболее доступным методом исследования мочи на содержание в ней аскорбиновой кислоты является определение редукционной способности мочи титрованием йодноватокислым калием, титр которого длительное время практически не изменяется.

К 10 мл дистиллированной воды приливают пипеткой сначала 1 мл профильтрованной (можно через вату) мочи, затем 1 мл 5%-ного раствора соляной кислоты, 1 мл 2%-ного йодистого калия и 5 капель 2%-ного раствора крахмала.

Смесь, перемешав, титруют 0,001 н раствором йодноватокислого калия до появления синего окрашивания, не исчезающего в течение 30 сек.

Установлено, что 1 мл 0,001 н раствора йодноватокислого калия соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты. Содержание витамина С в миллиграммах в 100 мл мочи вычисляют по формуле:

$$x = \frac{a \cdot 0,088 \cdot 100}{\dots}$$

где a — количество 0,001 н раствора йодноватокислого калия, мл;

b — количество мочи, мл.

Пример. На титрование 2 мл мочи затрачено 4 мл 0,001 н раствора йодноватокислого калия. Следовательно, в моче содержится следующее количество аскорбиновой кислоты:

$$x = \frac{4 \cdot 0,088 \cdot 100}{2} = 17,6 \text{ мг\%}.$$

Правильность реакции контролируется пробой с дистиллированной водой. В контрольной пробе посинение жидкости должно наступить от 2—3 капель реактива. Если посинения нет и после 5 капель, значит была какая-то погрешность, например, при изготовлении раствора крахмала. Последний нужно готовить на непродолжительный срок и проверять.

По данным М. А. Артемичева, у здоровых лошадей в летний период в моче содержится от 11 до 16 мг% аскорбиновой кислоты, зимой — около 9 мг%. Наименьшее количество аскорбиновой кислоты (до 3 мг%) выявлено у лошадей с нарушенным обменом веществ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВАКАТ-КИСЛОРОДА В МОЧЕ

Вакат-кислород в моче — количество кислорода, необходимое для полного окисления соединений, выделяющихся в моче. Определение вакат-кислорода является важным показателем интенсивности окислительных обменных процессов, протекающих в организме животных.

Определение вакат-кислорода по Каницу. В небольшую круглодонную колбочку с пришлифованным холодильником отмеривают 0,5 мл мочи, приливают пипеткой 5 мл сернокислого раствора KJO_3 , ставят на плитку с асбестовой сеткой, плотно одевают обратный холодильник и нагревают. Появляются окрашенные пары, после исчезновения их колбочку продолжают нагревать еще 30 мин. Затем ее снимают, охлаждают, содержимое переносят в коническую колбу на 100—150 мл, круглодонную колбочку 2—3 раза ополаскивают 5—10 мл воды, которую сливают в коническую колбу, нагревают на плитке до обесцвечивания и охлаждают. К раствору прибавляют около 0,5 г кристаллического йодистого калия и титруют 0,1 н раствором гипосульфита. Одновременно с основным опытом ставят контрольный, т. е. вместо мочи приливают 1 мл дистиллированной воды.

В отдельной пробирке определяют хлориды по Фольгарду, так как в условиях окисления хлор отщепляется в свободном виде и надо вносить поправку на окисление хлоридов мочи.

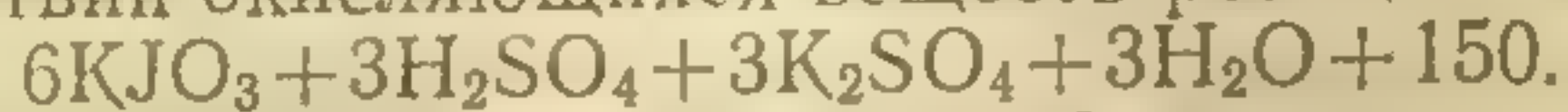
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРА В МОЧЕ

3 мл неконсервированной мочи вливают в фарфоровую чашечку, подкисляют консервированной азотной кислотой, приливают 10 мл 0,1 н раствора азотнокислого серебра и 2—3 мл насыщенного водного раствора железо-аммонийных квасцов. После этого избыток азотнокислого серебра оттитровывают 0,1 н раствором роданистого аммония.

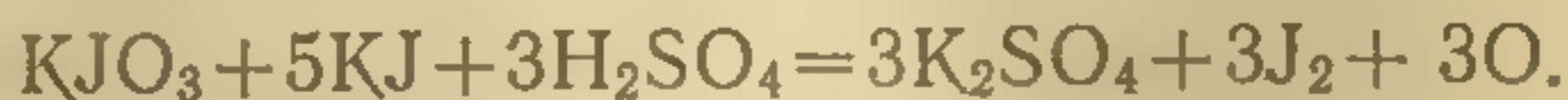
По количеству израсходованного азотнокислого серебра вычисляют содержание хлора в исследуемой моче.

1 мл 0,1 н AgNO_3 соответствует 0,003545 г хлора.

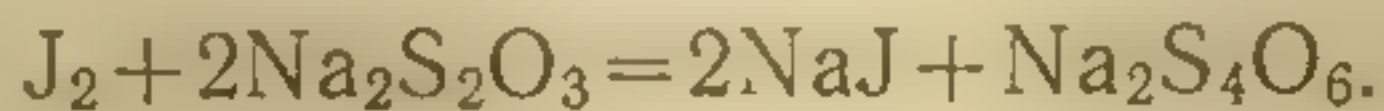
В присутствии окисляющихся веществ реакция протекает так:



Оставшийся неизрасходованным KJO_3 в присутствии KJ разлагается по формуле:



Освободившийся йод вступает в реакцию с гипосульфитом:



На один атом йода идет 1 моль гипосульфита, а так как атом эквивалентен $\frac{1}{6}$ моля KJO_3 , 1 мл 0,1 н раствора гипосульфита соответствует 3,567 мг KJO_3 . Так как 6 молей KJO_3 дают 15 атомов свободного кислорода, 240 г O_2 (15×16) соответствуют $214,02 \times 6 = 1284,1$ г KJO_3 , а 1 мг израсходованного KJO_3 — 0,1869 мг кислорода.

Из количества гипосульфита, израсходованного в контрольном опыте, вычитают количество его, пошедшее в основном опыте. Полученную разницу умножают на 3,567, результат и будет составлять количество йодноватистого калия (мг), израсходованного на окисление.

В отдельной пробе мочи определяют содержание хлора, вычитав, сколько содержится его в 1 мл мочи. Умножают эту величину на 1,207 (для перевода в мг KJO_3) и вычитают из израсходованного количества йодноватистокислого калия. Полученную величину умножают на 0,1869.

Пример. При титровании в контрольном опыте пошло 27,5 мл 0,1 н раствора гипосульфита, в основном — 15,5.

В 1 мл мочи содержится 2 мг хлора, а KJO_3 — 2,414 мг. Тогда $(27,5 - 15,5) \times 3,567 - 2,414 \times 0,1869 = 7,55$ мг кислорода на 1 мл мочи. Данные анализа нужно выразить в суточном количестве мочи.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ В МОЧЕ

К 100 мл свежей мочи добавляют аммиак до появления осадка. Через 1—2 час. после осаждения фильтруют. Весь осадок переносят на фильтр и промывают подщелоченной аммиаком дистиллированной водой. Воронку с промытым осадком встав-

ляют в чистую колбу и наливают на фильтр подогретый 10%-ный раствор уксусной кислоты. К полученному прозрачному фильтрату добавляют насыщенный щавелевокислый аммоний. Выпадает осадок щавелевокислого кальция, который через 6—8 час. фильтруют.

Осадок, перенесенный на фильтр, промывают несколько раз 10%-ным раствором уксусной кислоты, воронку вместе с фильтром вставляют в другую чистую колбу. Фильтр прокалывают стеклянной палочкой и осадок сливают горячей дистиллированной водой в колбу. Туда же прибавляют 5 мл концентрированной H_2SO_4 и в горячем виде титруют 0,1 н раствором $KMnO_4$ до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 1—2 мин. При титровании раствор хорошо перемешивают.

1 мл 0,1 н раствора $KMnO_4$ соответствует 2 мг кальция.

Содержание кальция (мг%) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{100 \cdot 2 \cdot a}{v \cdot z},$$

где a — количество 0,1 н раствора $KMnO_4$, пошедшего на титрование, мл;

v — количество мочи, взятое для определения, мл;

z — удельный вес мочи.

Микрометод определения содержания кальция в моче. В центрифужную пробирку пипеткой наливают 2 мл мочи, добавляют 2 мл насыщенного раствора щавелевокислого аммония и оставляют на 30 мин., затем центрифугируют в электроцентрифуге (3000 оборотов в минуту) в течение 10 мин. После этого пробирку вынимают, жидкость с осадка сливают или отсасывают пастеровской пипеткой, присоединенной к резиновой груше, наливают в пробирку 4—5 мл дистиллированной воды и снова центрифугируют. Промывают водой еще раз, затем воду сливают, а на осадок наливают 6 мл 1 н раствора серной кислоты и нагревают в водяной бане до полного растворения осадка.

Полученный горячий раствор титруют 0,01 н раствором $KMnO_4$ из микробюретки до слаборозовой окраски.

Умножив количество 0,01 н раствора $KMnO_4$, пошедшего на титрование, на 0,2, получают количество кальция (мг) во взятом для анализа объеме мочи.

Пользуясь формулой, вычисляют количество кальция в мг%:

$$x = \frac{100 \cdot a \cdot 0,2}{v \cdot z},$$

где a — количество 0,01 н раствора $KMnO_4$, пошедшего на титрование;

v — количество мочи, мл;

0,2 — количество Са (мг), соответствующее 1 мл 0,01 н раствора $KMnO_4$;

z — удельный вес мочи.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРНОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ

Отмеривают пипеткой 5 мл мочи и вливают в колбу Кьельдаля, добавляют 5—10 мл смеси кислот ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$) и нагревают на электроплитке до полного выделения бурых паров окислов азота. Затем снимают с нагревательного прибора, охлаждают, добавляют 5 мл концентрированной азотной кислоты и снова нагревают до полного просветления жидкости. Снятую с нагретой плитки колбу охлаждают, добавляют 50—70 мл дистиллированной воды и еще кипятят несколько минут для окончательного удаления окислов азота. После охлаждения раствор выливают в мерную колбу емкостью 200 мл, доливают дистиллированной водой до метки, хорошо перемешивают. Затем берут 25 мл этого раствора в отдельный стакан на 200 мл, добавляют 10 мл концентрированной HNO_3 и нагревают до кипения. В горячий раствор добавляют 25 мл раствора молибденовокислого аммония. Фосфор при этом выпадает в виде желтого осадка. Осадку дают осесть, а прозрачную жидкость сливают на плотный беззольный фильтр.

Осадок в стакане несколько раз промывают водой до нейтральной реакции, причем промывные воды каждый раз выливают на фильтр.

Для проверки реакции собирают только что вытекшие из-под воронки капли фильтрата в чистую пробирку, добавляют 2—3 капли метилоранжа. В присутствии кислоты появляется красная окраска раствора. Нейтральная среда дает желтое окрашивание. После промывки осадок с фильтром помещают в стакан, где находится осадок, добавляют 100 мл дистиллированной воды, фильтр разрывают стеклянной палочкой на кусочки, кипятят несколько минут для удаления углекислоты. Раствор охлаждают, добавляют 30 мл 0,1 н раствора NaOH и снова кипятят на сетке для полного удаления аммиака. Пары аммиака обнаруживают по изменению цвета влажной красной лакмусовой бумаги.

После этого раствор охлаждают, добавляя несколько капель индикатора фенолфталеина, и титруют 0,1 н раствором H_2SO_4 до полного обесцвечивания раствора.

Чтобы вычислить количество фосфора (мг) во взятом объеме мочи, необходимо из количества 0,1 н раствора щелочи, прилитой к осадку, вычесть количество 0,1 н раствора H_2SO_4 , пошедшее на титрование, и умножить это число на 0,11075 и на 8. Количество фосфора (мг%) вычисляется по формуле:

$$x = \frac{(a_1 - a_2) \cdot 0,11075 \cdot 100 \cdot 8}{v \cdot g},$$

где a_1 — количество 0,1 н раствора NaOH , прилитого к осадку, мл;

a_2 — количество 0,1 н раствора H_2SO_4 , пошедшего на титрование, мл;

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Берут 1 мл мочи
взвешивают 9 мл воды
В одну мерную колбу
разбавленной в 10 раз
створа фосфора. В
взвешивают 10 мл
аммония и столько же
прибавляют по 2 мл
метки.

Растворы хорошо
размешивают. При наличии
не поможет — при
ния выпавших окислов
мочу профильтровать
вают по формуле:

где H_1 — отсчет по
вора;
 H_2 — отсчет по
вора;
0,1 — в 1 мл ста
фора.

0,11075 — количество P (мг), соответствующее 1 мл 0,1 н раствора NaOH, пошедшего на растворение осадка;

z — количество мочи, взятое для анализа, мл;

g — удельный вес мочи.

Для выражения количества фосфора в P_2O_5 необходимо полученный результат умножить на 2,28.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФОРА В МОЧЕ

Берут 1 мл мочи и разбавляют в 10 раз (к 1 мл мочи прибавляют 9 мл воды).

В одну мерную колбу или цилиндр на 25 мл берут 2 мл мочи, разбавленной в 10 раз, в другую колбу — 2 мл стандартного раствора фосфора. В обе колбы прибавляют по 5 мл дистиллированной воды и хорошо перемешивают.

Затем в колбы прибавляют по 2 мл молибденовокислого аммония и столько же гидрохинона, дают постоять 5 мин. Затем прибавляют по 2 мл карбонат-сульфита и доливают водой до метки.

Растворы хорошо перемешивают и через 10 мин. колориметрируют. При наличии осадка мочу следует подогреть, если это не поможет — прибавить несколько капель HCl для растворения выпавших окислов. Если осадок не растворится, необходимо мочу профильтровать. Содержание фосфора (мг%) рассчитывают по формуле:

$$x = \frac{H_1 \cdot 0,1 \cdot 10 \cdot 100}{H_2 \cdot 2},$$

где H_1 — отсчет по шкале колориметра для стандартного раствора;

H_2 — отсчет по шкале колориметра для исследуемого раствора;

0,1 — в 1 мл стандартного раствора содержится 0,1 мг фосфора.

ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ СТАТИСТИКИ ПРИ ОБРАБОТКЕ ОПЫТНЫХ ДАННЫХ



В НАСТОЯЩЕЕ время математическая статистика находит самое широкое применение в различных отраслях народного хозяйства в том числе в ветеринарии при диагностике, профилактике заболеваний и лечении больных животных.

Выявление, например, ранних признаков нарушения обмена веществ у животных и профилактика возникающих по этой причине заболеваний требует выполнения биохимических исследований кормов, органов и тканей животных. Большая работа в этом направлении проводится ветеринарными лабораториями, многими из которых накоплен большой материал по содержанию неорганических веществ, витаминов и белковых соединений в биологических объектах. Однако анализ этих данных в большинстве случаев проводится путем простого визуального сопоставления их с имеющимися в литературе так называемыми нормативными показателями, в результате чего делаются диагностические выводы о причинной связи того или иного заболевания с определенным видом нарушения обмена веществ. Чтобы из результатов клинических и лабораторных исследований можно было получить соответствующую информацию, необходим их глубокий анализ с привлечением математических методов, которые позволили бы разобраться в массе варьирующих материалов, определить степень достоверности и установить их связь с наблюдаемыми заболеваниями. Такой анализ экспериментальных данных намного повысил бы эффективность и действенность исследований, проводимых ветеринарными лабораториями.

Часто бывает и так, что у животных одного и того же хозяйства наблюдается несколько видов нарушений обмена веществ, вызванных минеральной, витаминной или углеводной недостаточностью. Это еще более усложняет общую картину, и анализ

лабораторных и клинических исследований становится затруднительным, особенно если принимать во внимание варьирование изучаемых показателей. Вообще необходимо отметить, что визуальный метод оценки экспериментальных материалов не дает возможности выявить существенные и несущественные отклонения от показателей, наблюдаемых у здоровых животных из-за разброса данных, вызванного большой вариабельностью изучаемых объектов.

В этих случаях на помощь экспериментатору приходит математическая, или, как ее еще иначе называют, вариационная статистика. Она представляет собой раздел математики, опирающийся на теорию вероятностей и используемый для установления закономерностей в массовых явлениях методом обобщающих показателей.

Математическая статистика является тем мощным инструментом в руках научного и практического работника, с помощью которого он может разобраться в массе варьирующих результатов исследований, оценить их достоверность и выявить существенные и несущественные связи между изучаемыми явлениями.

В последние годы особенно широко стали применять статистические методы благодаря разработке способов, позволяющих обрабатывать данные сравнительно небольшого числа наблюдений. Это важно в том отношении, что в биологических, в том числе и в ветеринарных исследованиях, чаще всего имеют дело не с общей совокупностью изучаемых показателей, а с ограниченным их числом, с так называемой выборкой из генеральной совокупности. Не говоря уже о том, что сплошное наблюдение потребовало бы весьма больших затрат, оно не всегда является и возможным, так как при проведении некоторых исследований опытный материал приводится в негодность или вообще уничтожается (например, при химических анализах, в фармакологических опытах над животными и т. д.).

В связи с заменой изучения генеральной совокупности изучением ограниченной выборки возникает вопрос, отражает ли последняя с достаточной степенью объективности свойства генеральной совокупности (является ли репрезентативной) подобно тому, как капля крови отражает свойства всей крови изучаемого животного. С помощью математической статистики разработаны определенные приемы взятия выборки, обеспечивающие в достаточной степени ее репрезентативность и получение объективных оценок параметров генеральной совокупности.

Обработка экспериментальных материалов методами математической статистики ценна еще и в том отношении, что она позволяет публиковать цифровые данные в четкой и сжатой форме вместо громоздких таблиц, занимающих много места и трудных для восприятия и особенно для анализа данных. Большой табличный материал заменяется всего 2—3 строчками, в которых приводятся определенные параметры, с помощью кото-

рых можно произвести оценку экспериментальных данных и получить объективные выводы по результатам исследований.

Приемы статистической обработки опытных данных весьма разнообразны, и это обстоятельство сильно затрудняет выбор подходящего метода. Поэтому мы задались целью дать простое и сжатое изложение методов математической статистики, доступное самому широкому кругу ветеринарных работников.

Описанные в настоящем руководстве приемы и методы могут быть использованы при обработке и оценке данных, полученных при проведении лабораторных и клинических исследований.

При изложении вопросов, связанных со статистической обработкой экспериментальных материалов, мы будем исходить из закономерностей так называемого нормального распределения значений измеряемой величины. Большинство статистических совокупностей, встречающихся в практике биологических исследований, имеют нормальное или близкое к нормальному распределение. Правда, иногда встречаются и отклонения, но они не настолько велики, чтобы можно было отказаться от использования законов и выводов нормального распределения.

Любое изучаемое множественное явление, свойство или признак обладает изменчивостью, т. е. под воздействием тех или иных случайных причин варьирует, принимает различные значения. Характер варьирования может быть изучен, если наблюдения сведены в вариационные ряды. Закономерность распределения опытных величин и его важнейшие особенности выявляются при графическом изображении, для построения которого на оси абсцисс наносят возможные значения определяемой величины (x), а на оси ординат число или частоты появления данных значений (n). Нормальное распределение значений измеряемой величины подчиняется уравнению Гаусса — Лапласа:

$$y = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-a)^2}{2\sigma^2}},$$

где y — величина ординаты распределения;

a — истинное значение определяемой величины;

x — значение, полученное при измерении;

e — основание натуральных логарифмов (2,718);

π — постоянное число (3,14);

σ — дисперсия или средний квадрат отклонения;

корень квадратный из этой величины известен под названием среднего квадратичного отклонения σ отдельного измерения от средней арифметической.

Графическое изображение этого уравнения (рис. 65) представляет собой кривую нормального распределения колоколообразной формы, симметричную относительно прямой $x=a$ и асимптотически приближающуюся к оси абсцисс при $x \rightarrow \pm \infty$. Из конфигурации кривой следует, что нормальному распределению присущи следующие общие закономерности:

1. Баттис: средняя часть...
стущие; т. е. ...
ческой ряда М.
числом наблюдений
2. Распределение
ма кривой ...
клоняется от ...
меньше вершины

п.

Рис. 65
Гаусса-
ремой
М — с

Уравнение Гау...
наблюдений (свы...
ных исследования...
тельно небольшим...
генеральной сово...
ваться так назыв...
зависит только от...
боды ряда ($k=n$...
Кривые распре...
нают кривые норм...
ния числа степен...
сближаются с ось...
распределение Ст...
вой нормального...
зом, по методу Ст...
ационных рядов.
Излагаемые пр...
данных базируются

1. Большая часть значений (членов ряда) располагается в средней части ряда, здесь наблюдается как бы их максимум, сгущение; т. е. чем ближе данная величина к средней арифметической ряда M , тем более часто она появляется и тем большим числом наблюдений представлена.

2. Распределение значений ряда в обе стороны от максимума кривой является симметричным. Чем больше член ряда отклоняется от среднего значения M , тем реже он встречается, меньше вероятность его появления.

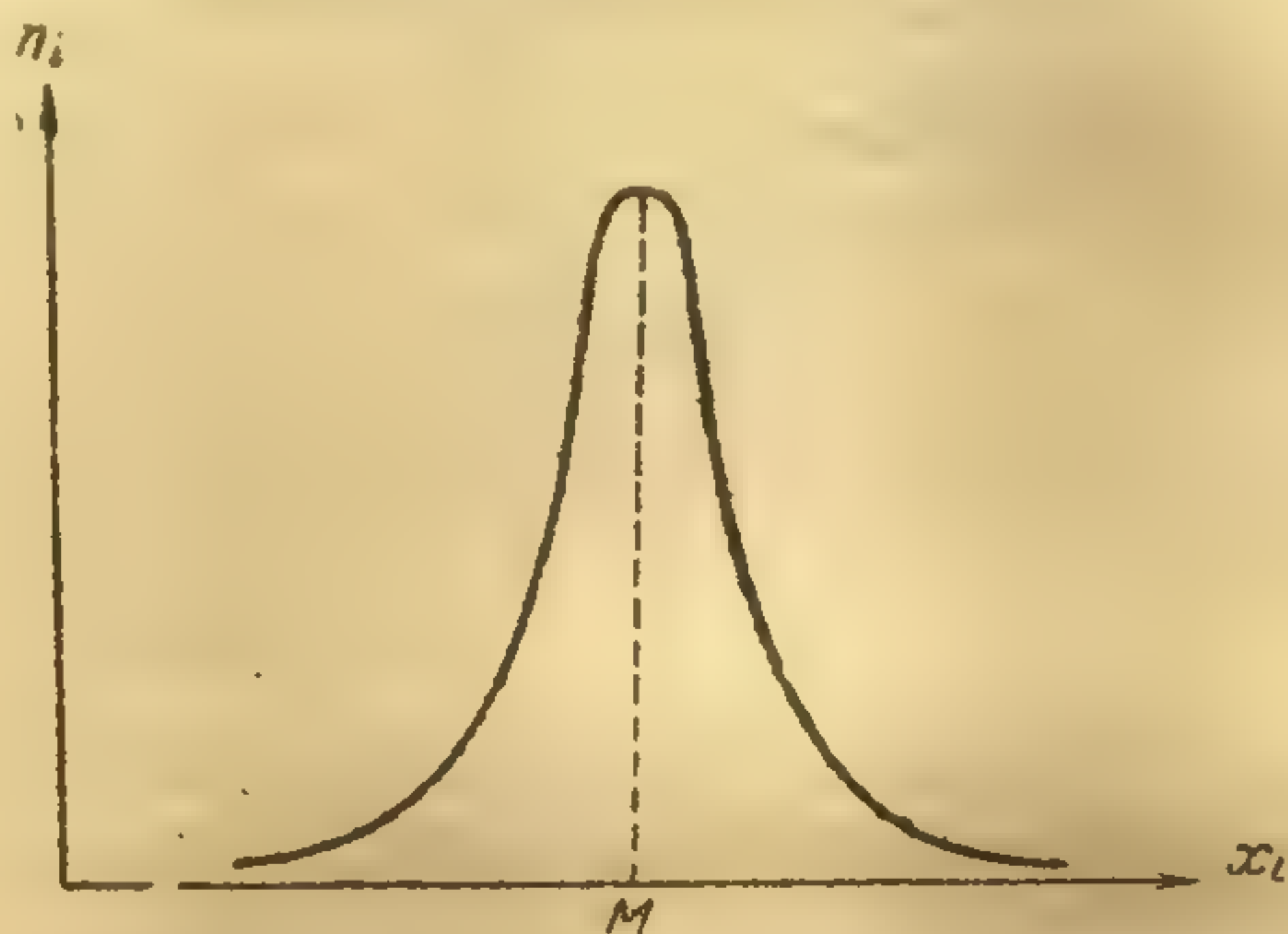


Рис. 65. Кривая нормального распределения Гаусса-Лапласа: x_i — отдельные значения измеряемой величины; n_i — частоты их появления; M — средняя арифметическая величина вариационного ряда

Уравнение Гаусса-Лапласа справедливо при большом числе наблюдений (свыше 30), но как мы уже отметили, в ветеринарных исследованиях часто приходится иметь дело и со сравнительно небольшим числом наблюдений, с малыми выборками из генеральной совокупности. В этом случае необходимо пользоваться так называемым t -распределением Стьюдента, которое зависит только от объема выборки, или, точнее, от степени свободы ряда ($k = n - 1$).

Кривые распределения Стьюдента по своей форме напоминают кривые нормального распределения, но при малых значениях числа степеней свободы ($n - 1$) они гораздо медленнее сближаются с осью абсцисс. Начиная уже с 20 наблюдений распределение Стьюдента довольно хорошо согласуется с кривой нормального распределения Гаусса-Лапласа. Таким образом, по методу Стьюдента возможна обработка и больших вариационных рядов.

Излагаемые приемы и методы обработки экспериментальных данных базируются на t -распределении Стьюдента, исходя из

того, что оно наиболее часто применяется в исследовательской и практической работе. Однако оно может быть использовано и при обработке большого числа наблюдений. При оценке существенности различий между опытными данными и определении доверительных границ, заключающих наиболее достоверное значение измеряемой величины, мы будем исходить из критерия t и уровня значимости P .

В биологических исследованиях считается вполне достаточным опираться на уровень вероятности α , равный 0,95 (или 95%). Следовательно, за достоверные события принимают такие, вероятность возникновения которых равна 0,95 и больше. Вероятность противоположного события, которой можно пренебрегать в данном исследовании, принято называть уровнем значимости P . Достоверность различия, вывода или заключения считается доказанной, если его вероятность α равна 0,95, т. е. составляет 95 шансов из 100. Но достоверность вывода, или заключения, является доказанной, если ему отвечает уровень значимости P , равный 0,05 или меньший, т. е. против данного утверждения или различия не более 5 шансов из 100. Следовательно, выдвинутое из данных эксперимента положение является достоверным, доказанным.

Применение математической статистики при выполнении экспериментальных исследований позволяет получить ответ на следующие 3 вопроса:

1. Какова погрешность произведенных измерений изучаемой величины и укладывается ли она в допустимые пределы, гарантированные принятым уровнем значимости?

2. Доказано ли влияние изучаемого фактора на те или иные показатели исследуемого объекта или имеющиеся различия между опытными и контрольными данными объясняются разбросом данных, т. е. случайными ошибками эксперимента?

3. Имеется ли корреляционная зависимость между изучаемыми показателями и какова теснота их связи?

Нетрудно видеть, что эти вопросы являются основными при выполнении тех или иных опытных работ, так как получение ответа на последние позволяет экспериментатору сделать правильные, объективные выводы из результатов исследований и наметить пути и методы решения поставленной задачи.

Но прежде чем производить математическую обработку результатов эксперимента, необходимо числовые данные привести к виду, удобному для такой обработки. Данные следует упорядочить и оставить в них то количество цифровых знаков, которое согласуется погрешностью измерений.

ОШИБКИ ОПЫТА И ИХ КЛАССИФИКАЦИЯ

При выполнении экспериментальных работ мы получаем значение измеряемой величины с большим или меньшим приближением. Точного ее значения мы получить не можем вслед-

ствие того, что любые измерения содержат более или менее значительные погрешности. Поэтому в опытных данных должны приводиться не только числовые значения изучаемых величин, но и степень их точности.

По своему характеру ошибки опыта делятся на: 1) систематические, 2) случайные и 3) грубые, или промахи.

Промахами называются грубые ошибки, сильно искажающие опытные данные. Сюда относятся, например, ошибки, связанные с неверными отсчетами при взвешивании и отмеривании объемов и отсчетами показаний на шкалах приборов, с потерями навесок, растворов и т. п. Результаты таких определений отбрасываются при вычислении среднего значения.

Систематические ошибки возникают вследствие неправильности в показаниях приборов, неточной калибровки измерительной посуды, несовершенства методики опыта и односторонних внешних воздействий. Эти ошибки обычно оказывают постоянное (одностороннее) влияние на данные опытов. В результате изучения причин их возникновения они могут быть учтены путем проверки посуды, приборов и уточнения методики опыта. При этом в данные измерений могут быть внесены необходимые поправки.

Случайными называются неопределенные по величине и знаку ошибки, возникающие вследствие одновременного действия и проявления различных причин, не находящихся во взаимной зависимости. Случайные погрешности обнаруживаются при многократном измерении данной величины в том, что полученные результаты отличаются друг от друга даже в тех случаях, когда повторные определения проводятся одинаково тщательно и, казалось бы, при одних и тех условиях.

В отличие от систематических ошибок случайные не могут быть устранены или исключены введением каких-либо поправок. Однако их можно уменьшить увеличением числа параллельных измерений. Влияние случайных ошибок на результат измерения учитывают теоретически путем обработки серии параллельных измерений данной величины с помощью методов математической статистики. Ошибкой измерения называют разность между результатом измерения и истинным значением измеряемой величины:

$$x - a = \pm x,$$

где x — ошибка, x — результат измерения, a — истинное значение.

Ошибка измерения характеризует его точность и правильность. Воспроизводимость измерения показывает, в какой мере можно ожидать получения того же показателя при повторении измерения в тех же условиях и тем же методом. Достижение точности при отсутствии воспроизводимости получаемых результатов, очевидно, невозможно, но хорошая воспроизводимость еще не означает правильности результата: данные измерений

могут включать в себя систематическую ошибку, следовательно, условием получения правильных результатов является хорошая воспроизводимость при отсутствии систематической ошибки.

Абсолютная и относительная ошибка

При оценке результатов опыта необходимо различать понятия об абсолютной и относительной ошибках. Абсолютная ошибка x — это разность между полученным результатом x и истинным значением определяемой величины a :

$$x - a = \pm \alpha.$$

Но так как истинное значение остается неизвестным, а в результате опыта получается лишь наибольшее вероятное или среднее значение измеряемой величины, то за абсолютную ошибку принимают разность между отдельным определением x_i и средним значением M :

$$x_i - M = \pm \alpha.$$

Различают еще предельную абсолютную ошибку $\alpha_{пр}$, т. е. максимально допустимую ошибку при проведении данного опыта. В случае шкал приборов и измерительной посуды, снабженной делениями, за предельную ошибку принимают половину деления шкалы. Например, если цена деления пипетки 0,1 мл, то предельная ошибка $\alpha_{пр} = \pm \frac{1}{2} \cdot 0,1 = 0,05$ мл. Абсолютная ошибка выражается в тех же единицах, в которых измерялась данная величина.

Относительной ошибкой $\Delta\%$ называется отношение абсолютной ошибки к измеряемой величине (ее среднему значению), выраженное в процентах $\Delta\% = \frac{\alpha \cdot 100}{M}$.

Предельной относительной ошибкой $\pm \Delta\%$ называют максимальную ошибку, которая еще считается допустимой при проведении данного измерения.

Абсолютная ошибка не дает возможности сравнивать между собой точность, с которой проводились измерения в поставленных опытах. Такая оценка может быть произведена с помощью относительной ошибки, которая чаще всего выражается в процентах, в то время как абсолютная ошибка выражается в единицах измерения среднего результата.

Пример. Определяли количество фосфора в кормах. В пробе № 1 было найдено 4,2 г фосфора, в пробе № 2 — 0,24 г в 1 кг сухого корма. В первом случае абсолютная ошибка составила $\pm 0,1$ г/кг, во втором — $\pm 0,01$ г/кг. Оценку точности определения фосфора в каждой из проб производят следующим образом:

Относительная ошибка первого определения:

$$\Delta\%_1 = \frac{0,1 \cdot 100}{4,2} = \frac{10}{4,2} = 2,4\%.$$

Относительная ошибка второго определения:

$$\Delta \%_2 = \frac{0,01 \cdot 100}{0,24} = \frac{1}{0,24} = 4,2\%$$

Оказалось, что второе определение дало результат с погрешностью, вдвое превышающей погрешность первого определения, между тем как его абсолютная ошибка была меньше в 100 раз абсолютной ошибки первого определения.

ЭЛЕМЕНТЫ ПРИБЛИЖЕННЫХ ВЫЧИСЛЕНИЙ И ПРАВИЛЬНОЕ ОФОРМЛЕНИЕ ДАННЫХ ИЗМЕРЕНИЙ

При обработке результатов опыта, в том числе и результатов анализа, нередко допускаются ошибки в отношении числа значащих цифр. Данные опыта дают нам приближенные значения определяемых величин, что обусловлено погрешностями измерений. В связи с этим результат опыта должен быть выражен числом, которое показывает не только среднее значение определяемой величины, но и точность ее измерений. Это означает, что относительная ошибка округления числа, выражающего результат опыта, должна соответствовать погрешности измерения данной величины. Результат, выраженный слишком большим количеством цифр, может привести к неверному заключению относительной точности измерения, так как можно предполагать, что она значительно выше, чем на самом деле.

В связи с этим необходимо хотя бы коротко ознакомиться с приближенными числами и приемами их оформления. Оценивая точность чисел, необходимо различать 2 понятия: «десятичный знак» и «значащая цифра». Десятичными знаками называются цифры числа, стоящие правее запятой, отделяющей его дробную часть. Значащими цифрами называются все цифры числа, кроме нулей, стоящие слева. Нули впереди числа не являются значащими, а только указывают местоположение других цифр. Так, например, в числе 0,00256 только три значащие цифры (256). Нули в середине числа, между другими цифрами, всегда являются значащими. Нули в конце числа могут быть значащими и незначащими, в зависимости от того, с какой точностью была измерена данная величина. Например, если навеска 0,3200 г была взята на аналитических весах, оба нуля являются значащими, так как аналитические весы позволяют определять и десятичные доли грамма, т. е. четвертый десятичный знак. В величине навески 2,320 г взятой на техномических весах, последний нуль значащей цифрой не является, поскольку техномические весы не указывают тысячных долей грамма, их чувствительность составляет $\pm 0,01$ г.

При округлении приближенных чисел приходится отбрасывать один или больше десятичных знаков в конце числа. При этом руководствуются правилом, если отбрасываемая цифра меньше 5, ее отбрасывают, а предыдущую цифру оставляют без

изменений; если отбрасываемая цифра больше 5, то предыдущую цифру увеличивают на единицу. Если отбрасывается цифра 5, придерживаются правила четности: если предыдущая цифра четная, она остается без изменения; а если нечетная, увеличивается на единицу.

Рассмотрим несколько примеров по оформлению числовых записей результатов эксперимента.

Пример 1. При установке титра 0,1 н NaOH была записана поправка к титру $K=0,93245$. Определить:

1) правильно ли произведена запись поправки к титру, 2) сколько следует оставить в данном числе десятичных знаков, с тем, чтобы погрешность его округления соответствовала погрешности установки титра раствора NaOH?

Предельная абсолютная ошибка на бюретке $\alpha_{пр} = \pm 0,05$ мл (половина деления). Для установки титра обычно берут 25 мл 0,1 н HCl (приготовленной из фиксанала). На титрование этого объема расходуетсЯ близкий к нему объем раствора NaOH (приблизительно децинормального). Относительная ошибка титрования $\Delta\% = \frac{0,05 \cdot 100}{25} = 0,2\%$.

К этому еще следует прибавить ошибку отмеривания пипеткой 25 мл 0,1 н HCl, равную 0,1%. В сумме это составит относительную ошибку, равную 0,3%.

Число, выражающее значение поправки к титру, дано с абсолютной ошибкой $\alpha = \pm 0,000001$. Относительная погрешность округления числа $\Delta\% = \frac{0,000001 \cdot 100}{0,032452} = 0,0001\%$.

Отсюда следует, что запись поправки к титру раствора является неправильной: число дано с погрешностью в $\pm 0,0001\%$, а сама установка титра была выполнена с погрешностью $\pm 0,3\%$. Учитывая погрешность установки титра, поправка K должна быть записана с тремя десятичными знаками, т. е. $K=0,932$. Если бы мы оставили только два десятичных знака, то ошибка округления числа превысила бы ошибку установки титра, что в свою очередь, внесло бы погрешность в данные объемных определений, выполненных с участием приготовленного раствора.

При различных вычислениях необходимо иметь в виду совершенно очевидное положение о том, что никакие математические действия с результатами опытов не могут увеличить их точность и точность конечного результата. Поэтому, если в цепи вычислений имеется какое-либо не очень надежное число, то точность конечного результата не может быть большей, чем точность наименее надежного звена. Теория ошибок приводит к следующим выводам, важным при проведении экспериментальных исследований:

1. При сложении и вычитании приближенных чисел в окончательном результате следует оставлять не больше знаков после запятой, чем их имеется в наименее точном числе. Наименее

точным считается число с меньшим количеством десятичных знаков.

2. При умножении и делении в конечном результате следует сохранять не более значащих цифр, чем их имеется в наименее точном числе.

3. При сложении и вычитании приближенных чисел складываются их абсолютные ошибки. При умножении и делении суммируются относительные ошибки.

Пример 1. Для вычисления молекулярного веса хлористого кальция CaCl_2 в таблице Менделеева находим следующие значения атомных весов: для кальция 40,08 и для хлора 35,457. Однако было бы неправильным написать значение молекулярного веса хлористого кальция $40,08 + 2 \cdot 35,457 = 110,994$. Атомный вес кальция приводится в таблице с двумя десятичными знаками, следовательно, молекулярный вес CaCl_2 должен быть записан с двумя десятичными знаками: 110,99.

Пример 2. На титрование общей свободной кислотности водной вытяжки силоса было израсходовано 12,5 мл 0,1 н NaOH , имеющего поправку к титру $K=0,981$. Произвести перерасчет на объем точно 0,1 н раствора NaOH .

Объем точно 0,1 н NaOH равен: $12,5 \cdot 0,981 = 12,2625$ мл. Однако, учитывая, что наименее точное число (12,5), имело 3 значащие цифры, в конечном результате оставляем такое же количество значащих цифр, т. е. записываем, что объем раствора точно 0,1 н NaOH составляет 12,3 мл.

ВАРИАЦИОННЫЙ РЯД И ЕГО ХАРАКТЕРИСТИКА

Ряд значений изучаемой величины, полученной в результате опыта, называется вариационным рядом. Эти значения колеблются в определенных пределах, варьируют, чем, собственно, и объясняется название «вариационный ряд».

Если отдельные значения измеряемой величины даны в возрастающем или убывающем порядке, то ряд называется упорядоченным, ранжированным вариационным рядом.

Отдельные члены ряда обозначаются через x_i , где i может принимать различные значения от 1 до n . Таким образом, ряд имеет следующее математическое выражение:

$$x_1, x_2, x_3 \dots x_n. \quad (1)$$

Различают простые и сложные ряды. Простым называется ряд, в котором не повторяются отдельные значения. Примером может служить указанный ряд (1). Сложным называется ряд, в котором отдельные значения изучаемой величины (признака) повторяются, имеют те или иные частоты. Частотой называется число, показывающее, сколько раз повторяется одно и то же значение у отдельных членов ряда. В общем виде сложный ряд имеет обозначение:

$$\begin{array}{c} x_1, x_2, x_3 \dots x_n \\ n_1, n_2, n_3 \dots n_n \end{array} \quad (2)$$

Вариация (изменение) признака может быть дискретной (прерывной) и непрерывной (интервальной). В соответствии с этим вариационным ряды делятся на дискретные и непрерывные. В дискретных рядах значения признака различаются между собой на целые числа. Например, количество анализов, выполненных за день, число животных в опытных группах и т. д. В непрерывных, или интервальных, рядах значения признака могут отличаться друг от друга на очень малую величину в зависимости от точности измерения и принятой в опыте единицы измерения. Можно сказать, что дискретные ряды получаются в результате счета, а интервальные — в результате измерения.

В случае больших непрерывных рядов для их математической обработки значения (вариации) признаки объединяются в интервалы (классы). Обычно ряд разбивают на 5—10 интервалов. Для нахождения размера интервала разность между наибольшим (x_{\max}) и наименьшим (x_{\min}) членом ряда делят на

принятое число интервалов:
$$\frac{x_{\max} - x_{\min}}{\text{число интервалов}} = l, \text{ где } l — \text{ширина интервала.}$$

Если при этом получаются дробные числа, то в целях упрощения статистической обработки их округляют с таким расчетом, чтобы получить однозначные или не более чем двузначные числа.

Рассмотрим пример. Допустим, производилось взвешивание 24 опытных животных (свиней), в результате которого были получены следующие данные (кг): 75, 82, 76, 81, 84, 85, 83, 88, 90, 99, 93, 86, 87, 93, 91, 89, 90, 87, 97, 95, 88, 86, 86.

Разбиваем полученный ряд на 5 интервалов. Наибольший член ряда $x_{\max} = 99$, а наименьший $x_{\min} = 75$ кг. Определяем размер интервала:

$$l = \frac{99 - 75}{5} = \frac{24}{5} = 4,8 \text{ кг.}$$

Полученное значение округляем до 5. После упорядочения ряда и распределения данных по интервалам получаем следующий интервальный ряд:
интервалы (кг): 75—80, 80—85, 85—90, 90—95, 95—100;
частоты: 3 5 9 5 2.

При статистической обработке интервальный ряд превращают в дискретный. Для этого находят центральное значение интервала, которое приближенно равно среднему значению крайних членов интервала. Например, центральное значение интервала (75—80) равно $\frac{75+80}{2} = 77,5$ и т. д.

После соответствующих пересчетов получаем дискретный ряд:
центральное значение интервалов: 77,5, 82,5, 87,5, 92,5, 97,5;
частоты: 3 5 9 5 2.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ВАРИАЦИОННЫХ РЯДОВ

Статистическая обработка ряда опытных данных (или вариационного ряда) состоит из целого ряда приемов, позволяющих вычислить значения его параметров. Это необходимо для того, чтобы произвести оценку точности и надежности полученных данных и найти тот интервал значений, в котором с определенной достоверностью заключено наиболее вероятное значение определяемой величины.

Математическая обработка данных может производиться по-разному, в зависимости от того, как будут оцениваться результаты эксперимента. Допустим, что экспериментатор изучает действие какого-либо фактора (например, рационов кормления) на содержание фосфора в сыворотке крови животных. Тогда необходимо сравнить полученные данные по определению фосфора в сыворотке крови опытных животных с такими же данными для контрольной группы животных, которая воздействию изучаемого фактора не подвергалась. При этом необходимо выяснить: объясняются ли полученные расхождения между содержанием фосфора в сыворотке крови опытной и контрольной групп животных влиянием изучаемого фактора или указанные различия являются следствием разброса опытных данных, вызванных случайными ошибками измерений? Для получения ответа на этот вопрос применяется определенный прием статистической обработки результатов эксперимента.

Но может быть и другой случай. Допустим, что изучается содержание меди в кормах той или иной зоны. При этом, конечно, не возникает вопроса о том, чтобы сравнивать исследуемые корма с какими-то контрольными кормами. Само собою разумеется, что такой вопрос и не может возникнуть у экспериментатора, если речь идет о содержании какого-либо элемента в кормах, которые до этого не исследовались.

В таком положении с помощью математической статистики необходимо выяснить следующее: в какой мере достоверны полученные данные и укладываются ли они в допустимый интервал значений, который гарантируется определенной степенью надежности, какова погрешность средних значений определяемой величины?

Для получения ответа на поставленные вопросы необходимы несколько иные приемы математической статистики. В данном случае ряд экспериментальных данных обрабатывают как таковой, без его сопоставления с контрольным рядом.

Ниже будут рассмотрены методы и приемы статистической обработки результатов экспериментальных исследований, основанные на t -распределении Стюдента. В целях более сжатого систематического изложения материала мы приведем пункт за пунктом последовательные стадии обработки опытных данных, а затем на числовых примерах покажем их практическое приложение.

Математическая обработка результатов опыта начинается с вычисления средней арифметической величины, которая обозначается через M или \bar{x} . Средняя арифметическая величина является важнейшим параметром вариационного ряда. Она представляет собой наиболее вероятное значение измеряемой величины, математический центр тяжести найденных в эксперименте значений.

Вычисление средней арифметической величины M для простого ряда производится по формуле:

$$M = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (3)$$

В случае сложного вариационного ряда (с частотами n_i) для вычисления так называемой взвешенной средней арифметической величины M_v применяется формула:

$$M_v = \frac{n_1 x_1 + n_2 x_2 + n_3 x_3 + \dots + n_n x_n}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n n_i x_i}{n} \quad (4)$$

где x_i — результат отдельного измерения и n — их число.

Для характеристики и оценки вариационного ряда одной средней величины недостаточно. Чтобы наглядно продемонстрировать сказанное, обратимся к следующему примеру. Допустим, что производилось взвешивание двух опытных групп поросят и при этом были получены следующие данные (kg): 9,5; 9,6; 9,8; 10,1 и 10,2 для группы № 1 и 2,9; 5,4; 7,1; 15,6; 18,2 — для группы № 2. Средняя арифметическая величина для обеих групп одинакова и равна 9,8 кг, но амплитуда колебаний веса в группе № 2 составляет 15,3 кг, а в группе № 1 — всего 0,7 кг. Можем ли мы утверждать, что вычисленная из результатов взвешивания величина M характеризует средний вес животного? По отношению к группе № 1 величина M_1 достаточно надежно характеризует средний вес животного, но этого нельзя сказать о группе № 2, в которой амплитуда колебаний между минимальным и максимальным весом животных в 1,5 раза превосходит среднюю арифметическую величину M_2 .

Отсюда, следует, что для правильного суждения об измеряемой величине одной средней арифметической величины M недостаточно. Очевидно, необходимо еще знать, как велик разброс значений измеряемой величины и с какой ошибкой определена средняя величина.

Очень важно иметь представление о степени разброса значений измеряемой величины, о том, на сколько в среднем члены ряда отличаются от своей величины. Такую характеристику ряда дает средняя квадратическая ошибка S . Для ее вычисления находят абсолютное отклонение каждого члена ряда от

средней величины M , т. е. находят значение разностей $(x_1 - M)$, $(x_2 - M)$, $(x_n - M)$. Полученные разности возводят в квадрат и суммируют:
 $(x_1 - M)^2 + (x_2 - M)^2 + \dots + (x_n - M)^2$.

Сумму квадратов отклонений $\sum (x_i - M)^2$ делят на так называемую степень свободы ряда $K = n - 1$ и из полученного значения извлекают корень квадратный:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - M)^2}{n - 1}}, \quad (5)$$

где n — число измерений (число членов ряда).

Для характеристики средней величины M служит средняя квадратическая ошибка средней величины, которая обозначается через $\pm m$ и сокращенно называется ошибкой средней величины. Она равна средней квадратической ошибке ряда S , деленной на корень квадратный из числа членов ряда:

$$m = \pm \frac{S}{\sqrt{n}}. \quad (6)$$

Ошибка средней величины может быть вычислена и по другой формуле:

$$m = \pm \sqrt{\frac{\sum (x_i - M)^2}{n(n - 1)}}. \quad (7)$$

Ход дальнейшей статистической обработки экспериментальных данных будет зависеть от того, оценивается ли вариационный ряд как таковой или полученное среднее значение сравнивается со средним значением другого (контрольного) ряда и затем производится оценка существенности полученных различий.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ОТДЕЛЬНОГО ВАРИАЦИОННОГО РЯДА

При измерении какой-либо величины, изучаемой в опыте, ее отдельные значения, как это мы видели выше, характеризуются большим или меньшим разбросом, варьируют. Возникает вопрос: каковы границы, в которых должны находиться данные эксперимента, и в каких пределах считаются допустимыми колебания отдельных измерений? Очевидно, должен существовать определенный критерий оценки степени разброса данных, позволяющий производить их оценку. Такой критерий существует, называется он уровнем значимости или вероятности P . Для биологических исследований принят уровень значимости, равный 0,05. Ниже мы постараемся расшифровать это понятие, вложить в него определенный смысл.

Допустим, что данные измерений должны укладываться в какой-либо интервал $[a, b]$. Из этого интервала, очевидно, может допускаться «выскакивание» лишь определенного количества экспериментальных данных, в противном случае результаты

эксперимента будут забракованы. Уровень значимости P , равный 0,05, требует, чтобы 95% данных обязательств попадали в этот интервал и лишь 5% данных могут оказаться за его пределами (слева и справа). Ширина интервала определяется параметром t , величина которого зависит от уровня значимости P и так называемой степени свободы варьирования ряда K , равной $n - 1$, где n — число членов ряда. Параметр t показывает, на какое количество ошибок $\pm m$ может отклониться средняя величина M от истинного значения при заданном уровне значимости (вероятности) P . Допустим, что для P , равного 0,05, и степени свободы $K=3$ параметр t составляет 3. Это означает, что средняя M отклоняется от истинного (или наиболее вероятного) значения не более, чем на 3 ошибки m . При этом всего лишь 5 шансов из 100 за то, что это отклонение превысит 3 m . Из этого следует, что истинное значение измеряемой величины находится в границах $M \pm 3 m$, т. е. не выходит из интервала $[a, b]$, гарантированного уровнем значимости P , равным 0,05.

Для нахождения числовых значений t по заданному P и степени свободы K пользуются таблицей Стьюдента (стр. 413). В первой, левой, колонке таблицы приведены значения t , а в верхней горизонтальной строке — степени свободы K . Числовое значение P находится на пересечении строки t с колонкой, над которой проставлена заданная величина K . Значение P дается в десятичных дробях с тремя знаками после запятой. В целях удобства знак дробности (0) опущен, что следует иметь в виду при нахождении P . Например, если по таблице найдена для P цифра 173, то перед ней необходимо поставить знак дробности, и тогда получится значение P , равное 0,173.

Допустим, надо найти величину параметра t для степени свободы $K=8$ и уровня значимости (вероятности) P , равного 0,050. В вертикальной колонке, над которой находится заданное значение $K=8$, ищем величину P , равную 0,050 (или близкую к ней). В данном случае в колонке находим число 0,050. Двигаясь по этой же строке влево, на ее пересечении с колонкой t находим величину параметра t , равную 2,3.

Для нахождения верхней и нижней границ, в которых заключено наиболее вероятное значение измеряемой величины, нужно рассчитать точность опыта Σ , которая равна параметру t , умноженному на ошибку средней величины $\pm m$, т. е. $\Sigma = \pm t \cdot m$. Нижняя и верхняя границы для значения измеряемой величины находятся из выражения $M \pm \Sigma$, где $M - \Sigma$ — нижняя граница и $M + \Sigma$ — верхняя граница. В развернутом виде интервал $(M - \Sigma, M + \Sigma)$ получил название доверительного интервала, в котором с заданным уровнем значимости или надежности находится истинное (или наиболее вероятное, достоверное) значение измеряемой величины. Погрешность определения средней арифметической величины в процентах, полученной из вариационного ряда, вычисляют по формуле:

$$\Delta \% = \varepsilon \% = \frac{\varepsilon \cdot 100}{M} \quad (8)$$

Данные, полученные в результате статистической обработки, помещены в таблицу следующей формы:

№ п/п.	Измеряемая величина	n	$M \pm \Sigma$	P	t_p	Σ	$\Sigma\%$

Таким образом, вместо большой таблицы получается одна строка, в которой имеются все необходимые данные для оценки результатов измерения исследуемой величины. Здесь наглядно видны преимущества математической статистики, позволяющей представлять результаты исследований в чрезвычайно сжатой форме.

Оценка достоверности различий между опытными данными.

Обычно экспериментатор вычисляет средние величины из полученных в результате проведения опытов вариационных рядов для того, чтобы при их сопротивлении сделать определенные выводы относительно изучаемого фактора. Например, при изучении влияния антибиотиков на рост и развитие животных исследователь выделяет опытную и контрольную группы животных. В результате постановки опытов необходимо выявить, является ли существенной разница между привесами в опытной и контрольной группах (которая антибиотиков не получала) или это различие объясняется чисто случайными причинами. То же можно сказать и относительно разработки новых методов анализа, когда необходимо сравнивать результаты анализа одной и той же пробы, полученные новым и старым методами.

Оценка существенности различия между двумя средними M_1 и M_2 также производится при помощи критерия t . При обработке и оценке вариационного ряда как такового, без сопоставления с другим рядом, параметр t находят в таблице Стьюдента, исходя из уровня значимости $P=0,05$ и степени свободы ряда K . В случае же оценки существенности различий между средними, полученными из двух рядов, параметр t вычисляется из данных, полученных в результате математической обработки этих рядов. Сначала находят разность между двумя средними величинами M_1 и M_2 , при этом считают ее всегда положительной т. е. берут абсолютное значение разности. Поскольку обе величины M_2 и M_1 являются приближенными и определены с ошибками m_1 и m_2 , то и их разность также выражается приближенной величиной, включающей в себя определенную ошибку, размер которой за-

висит от точности величин M_1 и M_2 . Ошибку разности средних находят по формуле:

$$m_{m_1 - m_2} = \sqrt{m_1^2 + m_2^2}. \quad (9)$$

Параметр t_1 , необходимый для оценки существенности разницы между двумя средними, рассчитывают по формуле:

$$t_1 = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}. \quad (10)$$

При сравнении двух средних величин M_1 и M_2 необходимо учитывать общую степень свободы для двух сравниваемых рядов, равную сумме степеней свободы отдельных рядов:

$$K_{об} = K_1 + K_2 = n_1 - 1 + n_2 - 1 = n_1 + n_2 - 2. \quad (11)$$

При оценке существенности различий между двумя средними также исходят из уровня значимости $P=0,05$. Если вычисленному из данных опыта параметру t_1 , отвечает вероятность P , равная или меньшая 0,05, то различие считается существенным, т. е. вызвано действием изучаемого фактора. Если же P больше 0,05, различие является несущественным, недостоверным и объясняется только случайными ошибками эксперимента.

Значение вероятности P ($|t| \geq t_1$) находят по таблице Стьюдента (стр. 413), которая построена следующим образом. В первом, левом, вертикальном столбце проставлены значения, а в верхней горизонтальной строке — степени свободы вариационных рядов K . На пересечении строк t_1 и K (под прямым углом) расположены значения вероятности P . По сравнению с сокращенными таблицами такая таблица намного удобнее. Во-первых, отпадает необходимость ставить знаки «больше» ($>$) и «меньше» ($<$) перед значениями P , поскольку в таблице приводятся полные значения вероятности P ; во-вторых, при повторных экспериментах можно проследить за тем, в какую сторону передвигаются значения P : в сторону существенности различий или в сторону их несущественности, недостоверности. Для экспериментатора это очень важно, так как ход значений P может показать, стоит ли продолжать эксперименты в данном направлении или от них следует отказаться.

Допустим, что для вычисленных t_1 (2,8) и K (8) в таблице найдено P , равное 0,023. В таком случае различие между сравниваемыми средними величинами M_1 и M_2 является существенным, достоверным. Оно не может быть вызвано только случайными ошибками эксперимента, поскольку вероятность этого очень мала, всего 0,023, значительно меньше общепринятого уровня P , равного 0,05. Следовательно, здесь сказалось действие изучаемого фактора.

Предположим, что в другом случае для вычисленных t_1 (1,5) и K (8) по таблице было найдено P , равное 0,172. Это означает, что различие между M_1 и M_2 несущественно, недостоверно и может быть объяснено лишь случайными ошибками эк-

сперимента, поскольку вероятность такого предположения достаточно велика (0,172) и значительно превосходит общепринятый уровень P (0,05).

Данные, полученные при статистической оценке различий между результатами опытов, помещают в таблицу следующей формы:

Изучаемый фактор

Показатели	Номер опыта (или группы животных)			
	1	2	3	4 контроль
$M \pm m$ P				

В целях краткости записи в таблице обычно не указывают количество животных (или число измерений), оговаривая это в тексте. Если несколько групп животных (или опытов) сравниваются с одной и той же контрольной группой, то ее можно поместить в последнюю графу, а под каждой опытной группой записать значение P , полученное при сравнении ее с контрольной.

Можно пользоваться и другой формой таблицы:

№ п/п.	Изучаемая величина	n_1	n_2	$M_1 \pm m_1$	$M_2 \pm m_2$	t_1	$p(t > t_1)$

Приведенные формы таблиц показывают, что методы математической статистики позволяют представлять экспериментальные данные в очень сжатой форме: вместо большой таблицы — одна строка.

ОЦЕНКА ДОСТОВЕРНОСТИ РАЗЛИЧИЙ МЕЖДУ ОПЫТНЫМИ ДАННЫМИ ПРИ АЛЬТЕРНАТИВНОМ ВАРЬИРОВАНИИ

При альтернативном варьировании о различии между опытными данными судят не по количественным, а по качественным изменениям изучаемого признака — по его наличию или отсутствию. Например, реагирование или нереагирование животного при испытании различных доз лекарственных препаратов. При альтернативном варьировании ошибка среднего значения $\pm m$ вычисляется по формуле:

$$m = \pm \sqrt{\frac{P_1 \cdot P_2}{n}}, \quad (12)$$

где P_1 — процент наличия признака, P_2 — процент его отсутствия и n — число всех случаев.

Ошибка разности средних значений, полученных из двух опытов, рассчитывается по формуле:

$$m_{p_1} = p_2 \sqrt{m_1^2 + m_2^2} \quad (13)$$

Для оценки существенности различия между результатами двух опытов вычисляется критерий t_1 по формуле:

$$t_1 = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}, \quad (14)$$

где P_1 — процент наличия изучаемого признака в первом ряду наблюдений, а P_2 — процент наличия изучаемого признака во втором ряду наблюдений.

По таблице Стьюдента находят значение вероятности P , отвечающее вычисленным величинами степени свободы варьирования и параметру t_1 . Если P будет равно или меньше 0,05, различие между средними величинами существенно. При значении P , большем 0,05, различие несущественно.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕЗКО ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ЗНАЧЕНИЙ РЯДА

В экспериментальных исследованиях бывают случаи, когда одно или несколько значений ряда резко отличаются от остальных. Если обработку данных измерений производить с включением резко отличающегося значения, это сильно отражается на средней арифметической величине и других параметрах ряда и может привести к неверным выводам. Поэтому возникает вопрос, как поступать в таких случаях и можно ли отбросить «выскакивающие» данные опыта. Отбросить такие данные, не опираясь на какой-либо объективный критерий, означало бы стать на путь субъективизма при трактовке опытных данных.

Существуют определенные статистические критерии, позволяющие производить объективную оценку «выскакивающих» измерений. Для того чтобы выяснить, является ли резко отличающееся значение случайным в данном ряду измерений, поступают следующим образом. Сначала сомнительную величину исключают из вариационного ряда и затем вычисляют среднюю арифметическую величину M и среднюю квадратическую ошибку S . После этого находят абсолютное значение разности между «выскакивающим» значением и средней арифметической величиной $x_{\text{выск}} - M$. Полученную разность делят на среднюю квадратическую ошибку и находят так называемую величину α_1 :

$$\alpha_1 = \frac{x_{\text{выск}} - M}{S}. \quad (15)$$

Значение α_1 оценивают по специальной таблице (стр. 417), учитывая число измерений n (без отброшенного значения). Если вычисленному значению α_1 отвечает вероятность $P(|x| \geq \alpha_1)$ равная или меньшая общепринятого уровня — 0,05, то сомнитель-

ная величина отбрасывается. При значении $P (|x| \geq x_1)$, превышающем 0,05, сомнительная величина оставляется в ряду полученных измерений. Допустим, что вычисленной величине α_1 в таблице отвечает значение вероятности $P (|x| \geq \alpha_1)$, равное 0,05. Это означает, что сомнительное значение, наблюдавшееся в ряду измерений, не могло быть получено за счет случайных ошибок измерений, следовательно, оно существенно отличается от прочих значений ряда и должно быть отброшено. Если же найденная по таблице величина $P (|x| \geq \alpha_1)$ превышает 0,05, то «выскакивающее» измерение не может быть отброшено, так как больше 5 шансов из 100 за то, что оно получилось просто в результате разброса данных измерений.

Приведем пример практического использования рассмотренного правила. Было проделано 5 фотокolorиметрических определений фосфора в одной и той же пробе сыворотки крови подопытного животного (теленка). При этом были получены следующие результаты (мг %): 4,0; 4,9; 4,2; 4,5; 1,6. Среди них имеется одно измерение (1,6), которое резко отличается от остальных значений, «выскакивает» из ряда. Если вычислить среднюю арифметическую величину M_1 из всех 5 членов ряда, то она составит 3,8 мг %. При исключении сомнительного члена ряда средняя M_2 приобретает значение 4,4 мг %. Разница между обеими средними ($M_2 - M_1$) равна 0,6 мг %, что составляет около 14 % от средней величины M_2 .

Для оценки «выскакивающего» измерения (1,6) производим вычисление средней арифметической величины M , средней квадратической ошибки S и параметра α_1 ; при этом «выскакивающее» измерение не учитываем:

x	$(x-M)$	$(x-M)^2$
4,0	-0,4	0,16
4,9	+0,5	0,25
4,2	-0,2	0,04
4,5	+0,1	0,01
$\Sigma x = 17,6$		0,46

$$M = \frac{17,6}{4} = 4,4 \text{ мг \%}.$$

Средняя квадратическая ошибка

$$S = \sqrt{\frac{\Sigma (x-M)^2}{n}} = \sqrt{\frac{0,46}{4}} = 0,34.$$

$$\text{Величина } \alpha_1 = \frac{4,4 - 1,6}{0,34} = \frac{2,8}{0,34} = 8,1$$

В таблице 3 (оценка значений α_1) для числа членов n , равного 4, находим два близких к вычисленному значения α_1 : 6,530 и 14,468. Первое из них отвечает вероятности $P=0,001$. Очевидно, что вычисленному нами значению α_1 отвечает P меньше,

чем 0,01, т. е. $P < 0,01$. Таким образом, получается меньше одного шанса из 100 за то, что сомнительное значение 1,6 могло получиться за счет случайных ошибок. Оно существенно отличается от прочих членов ряда и должно быть отброшено.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЪЕМА (ЧИСЛА) НАБЛЮДЕНИЙ

Нередко в практической и научной работе экспериментатора возникает вопрос о том, сколько необходимо сделать измерений изучаемой величины для того, чтобы достоверно обосновать свои выводы. То же можно сказать и относительно количества животных в опытной и контрольной группах. Для обоснования выводов о действии изучаемого фактора необходимо какое-то определенное число животных, ниже которого случайные ошибки эксперимента могут стать соизмеримыми с влиянием того или иного фактора и различие между данными, полученными в контроле и опыте, может оказаться несущественным. Между тем эти различия могли бы быть выявлены при увеличении числа животных в группах.

При постановке тех или иных опытов необходимо считаться с экономической стороной дела. Увеличение числа опытных животных сильно удорожает проведение исследований. Может оказаться (и так часто бывает), что те же выводы и с достаточной степенью надежности могли бы быть получены и с меньшим числом животных, но, к сожалению, экспериментатор перед постановкой опыта не мог определить, сколько животных понадобится для проведения эксперимента.

Увеличивая произвольно объем наблюдений, можно уменьшить ошибку эксперимента до необходимых пределов. В связи с этим разрешается и обратная задача, т. е. выясняется, какое количество наблюдений потребуется для достоверных суждений об измеряемой величине.

Вычислить число наблюдений (число животных) можно с помощью формулы, по которой находится ошибка средней величины:

$$m = \pm \frac{S}{\sqrt{n}}, \quad (16)$$

где S — средняя квадратическая ошибка и n — число наблюдений.

Для приведения формулы (16) к виду, удобному для вычислений, возводим обе части формулы в квадрат и решаем ее относительно n :

$$m^2 = \frac{S^2}{n}, \text{ откуда } n = \left(\frac{S}{m} \right)^2. \quad (17)$$

Из формулы следует, что для вычисления необходимого количества наблюдений необходимо знать величину (ориентировочную) средней квадратической ошибки S . При этом необходи-

мо исходить из такой ошибки $\pm m$, которая может быть приемлемой в данном эксперименте.

Для нахождения значения n необходимо произвести рекогносцировочное измерение изучаемой величины и из полученных данных небольшого числа измерений вычислить среднюю квадратическую ошибку S , а затем, придавая m допустимое значение, вычислить количество измерений для достижения результата с приемлемой погрешностью. Приведем несколько примеров.

Пример 1. Допустим, что необходимо изучить среднее содержание фосфора в сыворотке крови животных. Обработка данных, полученных при определении фосфора в сыворотке крови 4 животных, показала, что средняя величина $M=4,50$, а средняя квадратическая ошибка S равна 0,95. Какое количество животных необходимо для того, чтобы ошибка средней величины $\pm m$ не превысила 0,4, т. е. чтобы погрешность наблюдений не превышала 10%.

Подставив данные рекогносцировочных измерений в формулу (17), получаем:

$$n = \frac{(0,95)^2}{(0,4)^2} = 2,4^2 = 6.$$

Итак, для того чтобы погрешность эксперимента не превысила заданной величины, т. е. 10%, необходимо взять для определения фосфора пробу крови от 6 животных.

Следует сделать оговорку, что формула для расчета объема измерений дана в предположении, что параметр t равен 1. Это означает, что мы находим значение n из формулы (17) с надежностью в 0,32. Это вполне допустимо, так как мы получаем величины M и S из данных малого числа наблюдений (в рекогносцировочном опыте).

Пример 2. Допустим, что при постановке опытов в лаборатории над животными доля неудачных измерений должна быть не больше 10%. Следует выяснить, сколько подопытных объектов (животных и др.) необходимо подвергать обследованию в порядке случайной выборки, если ошибка среднего результата не должна превышать 8%. В этом случае мы имеем дело с альтернативным варьированием, что видно из поставленного условия.

Доля неудачных измерений не должна превышать 10%, т. е. из 100 измерений 90 будут удачными, а 10 — неудачными. Необходимое число объектов исследований (n) мы найдем по формуле, которой пользуются для вычисления ошибки средней величины ($\pm m$) при альтернативном варьировании:

$$m = \pm \sqrt{\frac{P_1 \cdot P_2}{n}}, \quad (18)$$

где P_1 — доля удачных измерений, P_2 — доля неудачных измерений, n — общее число измерений.

Возведя обе части равенства (18) в квадрат и решив полученное уравнение относительно n , получим формулу для вычисления необходимого количества измерений (наблюдений):

$$m^2 = \frac{P_1 \cdot P_2}{n}, \text{ откуда } n = \frac{P_1 \cdot P_2}{m^2} \quad (19)$$

Поставив числовые данные, приведенные в нашем примере, получаем:

$$n = \frac{90 \cdot 10}{8} = \frac{900}{64} = 14 \text{ животных.}$$

Следовательно, для выполнения поставленного условия при постановке опыта понадобится 14 животных.

Чтобы вычислить количества опытных животных (или других объектов исследования) для обоснования достоверности полученных результатов, необходимо располагать известным значением средней квадратической ошибки S . Но до постановки опыта эта величина неизвестна и получить ее можно либо из данных пробного (рекогносцировочного) опыта, либо на основании литературных данных. В процессе исследований величина S будет уточнена.

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ (СТАТИСТИЧЕСКИЕ) СВЯЗИ

Изучаемые величины могут быть связаны между собой функциональной или статистической (корреляционной) зависимостью. Функциональной называется такая зависимость между двумя переменными величинами, при которой каждому значению одной из них отвечает определенное значение другой. Зависимости такого рода характерны для математики, физики, химии, механики и других наук. В области же биологической науки чаще встречаются корреляционные (статистические) связи, когда численному значению одной величины соответствует не одно, а группа значений другой величины. Это объясняется, во-первых, большой вариабильностью изучаемых объектов и, во-вторых, сложным взаимодействием многих причин. В таких случаях те или иные закономерности могут быть выявлены лишь в результате массового изучения исследуемых величин.

Корреляционная зависимость может быть: 1) прямой, если увеличение значений одной переменной величины приводит к возрастанию значений другой; 2) обратной, если увеличение (уменьшение) одной величины сопровождается уменьшением (увеличением) другой. Корреляционная связь отсутствует, если увеличение (уменьшение) одной величины не вызывает изменения другой.

Наиболее простой является линейная корреляционная зависимость, когда связи между изучаемыми величинами носят линейный характер. В последующем изложении мы будем рассматривать только линейные корреляционные связи.

При рассмотрении корреляционной зависимости очень важным является установление тесноты связи между изучаемыми величинами, т. е. оценка степени влияния измерений одной величины на другую. Не менее важным является нахождение математической зависимости между двумя величинами, выраженной в виде уравнения, связывающего изменения обеих изучаемых величин. Это позволяет показать установленную зависимость в наглядной графической форме.

В качестве показателя тесноты и характера связи между двумя величинами, при статистической обработке их значений служит так называемый коэффициент корреляции r , который может принимать значения от -1 до $+1$. Положительное значение r характеризует прямую связь, отрицательное значение — обратную корреляционную связь. Значение r , равное ± 1 , характеризует уже не корреляционную, а функциональную зависимость между изучаемыми величинами.

Коэффициент прямолинейной корреляции вычисляется по формуле:

$$r = \pm \frac{\sum (x - M_1)(y - M_2)}{\sqrt{\sum (x - M_1)^2 \sum (y - M_2)^2}}, \quad (20)$$

где $\sum (x - M_1)(y - M_2)$ — сумма произведений отклонений членов двух рядов от их средних, $\sum (x - M_1)^2$ и $\sum (y - M_2)^2$ — суммы квадратов отклонений первого и второго ряда;

$\sqrt{\sum (x - M_1)^2 \cdot \sum (y - M_2)^2}$ — среднее геометрическое отклонение значений обоих рядов от их средних арифметических значений M_2 и M_1 .

Вычислив значение r , необходимо еще оценить степень его достоверности. Для этой цели служит таблица r (стр. 416), в левой колонке которой приведены степени свободы варьирования рядов K , а в верхней строке над остальными колонками проставлены значения уровня значимости (вероятности) P . Степень свободы K сопоставляемых рядов вычисляется по формуле $K = n - 1$, но в этом случае n означает не общее количество членов в обоих рядах, а число пар их значений. Допустим, что общее количество равно 10, тогда число пар значений составляет 5.

Для оценки r поступают следующим образом. В строке с данной степенью свободы K находят близкое (или равное) вычисленному значение r и отмечают, какому уровню значимости оно отвечает. Если значение P будет равно или меньше 0,05, коэффициент корреляции считается достоверным. При значении P , большем 0,05, коэффициент корреляции считается недостоверным. Допустим, что $r = 0,74$ и общая степень свободы двух рядов $K = 8$. В строке для K , равного 8, ищем близкое к вычисленному значение (без учета знака). Находим два значения: 0,7155 для $P = 0,02$ и 0,7646 для $P = 0,01$. Приходим к выводу, что вычисленному нами коэффициенту $r = +0,74$ отвечает веро-

ятность P , меньшая 0,02. Это означает, что меньше 2 шансов из 100 против достоверности и 98 шансов из 100 в пользу достоверности. Следовательно, вычисленное из данных эксперимента значение $r = +0,74$ — достоверное и характеризует тесную прямую связь между изучаемыми факторами.

Особый интерес представляет установление корреляционной зависимости в случае альтернативного варьирования. Очень важным является выяснение связи между определенным видом нарушения обмена веществ и возникновения заболеваний, вызванных минеральной, витаминной, углеводной или белковой недостаточностью. Например, установление связи между недостатком каротина в крови коров-матерей и диспепсией новорожденных телят. Здесь при обследовании телят приходится отвечать на вопросы «да — нет», т. е. «заболел — не заболел». Нахождение корреляционной зависимости в таком случае подтверждает предположение о причине нарушения обмена веществ и позволяет ветеринарному специалисту принять соответствующие меры по профилактике заболеваний телят.

При нахождении корреляционной зависимости, в случае альтернативного варьирования, полученные при обследовании животных лабораторные и клинические данные располагают в соответствующей таблице. Например, при изучении причин заболеваний новорожденных телят и коров вследствие нарушения обмена веществ данные исследований помещают в таблице следующего вида:

№ п/п.	Кличка или номер коровы	Воз- раст	Ули- тан- ность	Данные биохимических анализов крови						Заболевае- мость	
				каротин, мг%	белок, %	фосфор, мг%	кальций, мг%	сахар, мг%	резервная щелоч- ность	телят	коров

Подсчитывают число животных (коров) с нарушением обмена веществ, вызванных заметным снижением биохимических показателей крови по отношению к показателям крови здоровых животных этой же зоны. Затем устанавливают число телят, заболевших диспепсией (или другим заболеванием), полученных от коров с нарушением обмена веществ и отдельно полученных от коров без нарушений обмена веществ.

Для определения степени связи нарушения обмена веществ у коров (вызванное, допустим, недостатком фосфора) с заболе-

ванием телят полученные данные располагают в так называемую корреляционную решетку следующего вида:

Состояние показателей обмена веществ	Число голов	Заболеваемость телят	
		заболело	не заболело
Неблагополучно		<i>a</i>	<i>b</i>
Благополучно		<i>c</i>	<i>d</i>

Коэффициент корреляции вычисляют по формуле (А. М. Мерков):

$$r = \pm \frac{ad - bc}{ad + bc} \quad (21)$$

где *a*, *b*, *c* и *d* — соответствующие цифровые значения каждого из 4 полей корреляционной решетки.

По величине полученного коэффициента *r* судят о степени связи того или иного вида нарушения обмена веществ с заболеваниями животных. Сильная (тесная) связь характеризуется коэффициентом корреляции, равным 0,7—1,0, средняя — 0,3—0,7 и слабая — 0,1—0,3.

Такого рода статистическая оценка данных по установлению связи между разными видами нарушений обмена веществ и заболеваниями животных ценна в том отношении, что позволяет ветеринарному специалисту принимать необходимые меры по ликвидации заболеваний и их профилактике.

Рассмотрим несколько примеров. Пример 1. На ферме, в порядке случайного отбора, было обследовано 60 коров. При этом оказалось, что сыворотка крови 40 коров содержит очень мало кальция (неблагополучная группа). У остальных 20 животных содержание кальция колебалось в нормальных для данной зоны пределах (благополучная группа). В неблагополучной группе из 40 полученных телят диспепсией заболело 18 голов, а в благополучной из 20 телят заболело 8 голов. Надо установить, имеется ли зависимость между снижением содержания кальция в сыворотке крови коров-матерей и заболеванием телят диспепсией.

Полученные данные по кальцию располагаем в корреляционной решетке:

Состояние по содержанию кальция в сыворотке крови	Число голов	Заболеваемость телят	
		заболело	не заболело
Неблагополучное	40	21(<i>a</i>)	19(<i>b</i>)
Благополучное	20	8(<i>c</i>)	12(<i>d</i>)

Вычисляем коэффициент корреляции:

$$r = \pm \frac{21 \cdot 12 - 8 \cdot 19}{21 \cdot 12 + 8 \cdot 19} = \frac{252 - 152}{252 + 152} = \frac{100}{404} = +0,2.$$

В нашем примере коэффициент корреляции оказался равным +0,2, т. е. связь заболеваемости новорожденных телят с недостатком кальция в сыворотке крови коров-матерей является слабой, и поэтому нет достаточных оснований к проведению профилактических мероприятий по корректированию рационов кормления в сторону увеличения содержания в них кальция.

Пример 2. В опыте, проведенном по группе коров, получавших большое количество силоса, из 30 родившихся телят диспепсией заболело 24, а от коров, которым за 2 месяца до отела перестали давать силос, из 20 телят заболело 8. Необходимо установить, имеется ли связь между заболеванием телят диспепсией и кормлением коров силосом до самого отела.

Тип кормления коров в сухостойный период	Получено телят	Заболеваемость телят диспепсией	
		заболело	не заболело
Силосный	30	24(a)	6(b)
Сенной	20	8(c)	12(d)

Вычисляем коэффициент корреляции:

$$r = \frac{24 \cdot 12 - 6 \cdot 8}{24 \cdot 12 + 6 \cdot 8} = \frac{288 - 48}{288 + 48} = \frac{240}{336} = +0,7.$$

Величина коэффициента корреляции +0,7 свидетельствует о том, что скармливание коровам большого количества силоса до самого отела оказывает сильное влияние на заболевание телят диспепсией.

ПРИМЕРЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ СТАТИСТИКИ В ОБРАБОТКЕ И ОЦЕНКЕ ОПЫТНЫХ ДАННЫХ

Рассмотрим практическое приложение изложенных методов математической статистики при обработке и оценке экспериментальных данных на нескольких конкретных примерах. При этом мы последовательно проведем числовые данные через соответствующие стадии статистической обработки, произведем сжатую запись вычисленных из эксперимента параметров (по специальной форме) и сделаем необходимые выводы по оценке результатов эксперимента.

Пример 1. При анализе 5 проб силоса, взятых из одной и той же силосной башни, были получены следующие результаты (г в 1 кг сухого силоса): 5,12; 4,88; 5,26; 4,79 и 5,34.

Необходимо произвести статистическую обработку полученных данных, рассчитать интервал содержания кальция в исследуемом силосе и относительную погрешность определений.

В данном случае речь идет о статистической обработке одного ряда с тем, чтобы найти тот интервал, в котором с определенной степенью надежности находится наиболее достоверное содержание кальция и оценить погрешность определений.

Производим необходимые вычисления по следующей схеме:

x_i	$(x_i - M)$	$(x_i - M)^2$
5,12	+0,04	0,0016
4,88	-0,20	0,0400
5,26	+0,18	0,0324
4,79	-0,29	0,0841
5,34	+0,26	0,0676

$$\Sigma x_i = 25,39$$

$$\Sigma (x_i - M) = 0,2257$$

1. Средняя арифметическая величина $M = \frac{\Sigma x_i}{n} = \frac{25,39}{5} = 5,08$ г/кг.

2. Ошибка средней величины

$$m = \pm \sqrt{\frac{\Sigma (x_i - M)^2}{n(n-1)}} = \pm \sqrt{\frac{0,2257}{5 \cdot 4}} = \pm 0,11.$$

3. В таблице Стьюдента (стр. 413) находим значение параметра t для степени свободы ряда $K = n - 1 = 5 - 1 = 4$ и уровня значимости P , равного 0,05. Параметр t оказался равным 2,7.

4. Точность анализов $\Sigma = \pm t_p \cdot m = \pm 2,7 \cdot 0,11 = \pm 0,30$.

5. Доверительный интервал, в котором с заданным уровнем вероятности ($P = 0,05$) находится истинное содержание кальция в исследуемом силосе: $[M - \Sigma; M + \Sigma] = [5,08 - 0,30; 5,08 + 0,30]$, где $M - \Sigma$ — нижняя и $M + \Sigma$ — верхняя границы интервала.

Следовательно, содержание кальция колеблется в пределах от 4,78 до 5,38 г/кг. В этом интервале находится истинное (или наиболее вероятное) содержание кальция, которое гарантируется (при данной степени свободы ряда) определенным уровнем вероятности $P = 0,05$.

6. Относительная погрешность определений:

$$\Delta \% = \Sigma \% = \frac{\Sigma \cdot 100}{M} = \frac{0,30 \cdot 100}{5,08} = 5,9\%.$$

Принимая во внимание, что погрешность определений кальция в биологических материалах объемным перманганатометрическим методом находится в пределах 3—5%, относительная погрешность выполненных анализов является вполне удовлетворительной.

Полученные при статистической обработке показатели записываем по следующей форме:

№ п/п.	Измеряемая величина	n	$M \pm m$	P	t_p	Σ	$\Sigma\%$
1	Содержание кальция в силосе, г/кг	5	$5,08 \pm 0,11$	0,05	2,7	$\pm 0,30$	5,9

Пример 2. В целях изучения влияния микроэлементов меди на рост и развитие поросят опытной группы (из 5 голов) давали медь из расчета 0,3 мг на 1 кг живого веса 1 раз в трое суток (в виде сульфата меди, который добавлялся в корма). Контрольная группа поросят меди не получала. За время опыта было установлено, что средний привес в опытной группе в расчете на одну голову за сутки (M_1), превышал привес (M_2) в контрольной группе на 0,06 кг. Необходимо установить, является ли это следствием разброса опытных данных по обеим группам или объясняется действием микроэлемента меди, т. е. с помощью математической статистики необходимо произвести оценку достоверности (существенности полученных в опыте) различий.

В данном случае речь идет о сопоставлении средних величин двух рядов, в связи с чем статистическая обработка производится по следующей схеме:

№ п/п.	Привесы поросят (кг на 1 голову)					
	опытная группа			контрольная группа		
	x_1	$(x_1 - M_1)$	$(x_1 - M_1)^2$	x_2	$(x_2 - M_2)$	$(x_2 - M_2)^2$
1	0,20	-0,03	0,0009	0,15	-0,02	0,0004
2	0,21	-0,02	0,0004	0,16	-0,01	0,0001
3	0,23	0	0	0,18	+0,01	0,0001
4	0,25	+0,02	0,0004	0,19	+0,02	0,0004
5	0,26	+0,03	0,0009	0,20	+0,03	0,0009
	1,15		0,0026	0,88		0,0019

1. Средние арифметические величины:

$$M_1 = \frac{1,15}{5} = 0,23 \text{ кг}; \quad M_2 = \frac{0,88}{5} = 0,17 \text{ кг}.$$

2. Ошибки средних арифметических величин:

$$m_1 = \pm \sqrt{\frac{0,0026}{20}} = \pm \sqrt{0,00013} = \pm 0,011;$$

$$m_2 = \pm \sqrt{\frac{0,0019}{20}} = \pm \sqrt{0,000095} = \pm 0,010.$$

3. Параметр t_1 вычисляем по формуле:

$$t_1 = \frac{M_2 - M_1}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} = \frac{0,23 - 0,17}{\sqrt{0,011^2 + 0,01^2}} = \frac{0,06}{\sqrt{0,000225}} = 4,0.$$

По вычисленному параметру t_1 (4,0) и степени свободы обрабатываемых рядов $K = 5 + 5 - 2 = 8$ находим, что уровень значимости (вероятности) P равен 0,004, т. е. значительно меньше общепринятого значения 0,05. Это означает, что разность средних значений является существенной, достоверной и таким образом полностью доказана эффективность изучаемого фактора — влияния микроэлемента меди на привесы поросят (меньше одного шанса из 100 против достоверности).

Результаты статистической обработки записываем в таблицу следующей формы:

Показатели	Номер опыта (или группы животных)	
	1 (опыт)	2 (контроль)
$M \pm m$	$0,23 \pm 0,011$	$0,17 \pm 0,010$
P	0,004	—

Для записи результатов обработки можно использовать и другую форму.

№ п/п.	Изучаемая величина	n_1	n_2	$M_1 \pm m_1$	$M_2 \pm m_2$	t_1	P
1	Привесы поросят (кг)	5	5	$0,23 \pm 0,011$	$0,17 \pm 0,010$	4,0	0,004

ВЫЧИСЛЕНИЕ КОЭФФИЦИЕНТА КОРРЕЛЯЦИИ

Пример. Группе опытных животных (поросят) скормливался антибиотик биоветин в дозе 500 ед. на 1 кг живого веса через 4, 3, 2 и 1 сутки. При этом соответственно были получены привесы (кг): 0,33, 0,35, 0,36, 0,38. Надо установить, имеется ли

Значения вероятностей $P(|t| \geq t_1)$

t_1 \ k	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,0	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
0,1	0,937	0,929	0,927	0,925	0,924	0,924	0,923	0,923	0,923	0,922
0,2	874	860	854	851	849	848	874	846	846	845
0,3	814	792	784	779	776	774	773	772	771	770
0,4	758	728	716	710	706	703	701	700	698	697
0,5	705	667	651	643	638	635	632	631	629	628
0,6	656	609	591	581	575	570	567	565	563	562
0,7	611	556	534	523	515	510	507	504	502	500
0,8	570	508	482	469	460	454	450	447	444	442
0,9	533	463	434	419	409	403	398	394	392	389
1,0	500	423	391	374	363	356	351	347	343	341
1,1	470	386	352	333	321	313	308	303	300	297
1,2	442	353	316	296	284	275	269	264	261	258
1,3	417	323	284	263	250	241	235	230	226	223
1,4	395	296	256	234	220	211	204	199	195	192
1,5	374	272	231	208	194	184	177	172	168	165
1,6	356	251	208	185	170	161	154	148	144	141
1,7	339	231	188	164	150	140	133	128	123	120
1,8	323	214	170	145	132	122	115	110	105	102
1,9	308	198	154	130	116	106	099	094	090	087
2,0	295	184	139	116	102	092	086	081	077	073
2,1	283	171	127	104	090	080	074	069	065	062
2,2	272	159	115	093	079	070	064	059	065	062
2,3	261	148	105	083	070	061	065	050	047	044
2,4	251	138	096	074	062	053	047	043	040	037
2,5	242	130	088	067	054	047	041	037	034	031
2,6	234	122	080	060	048	041	035	032	029	026
2,7	226	114	074	054	043	036	031	027	024	022

по расу делению Стъюдента

Таблица 1

11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
0,922	0,922	0,922	0,922	0,922	0,922	0,921	0,921	0,921	0,921
845	845	845	844	844	844	844	844	844	844
770	769	769	769	768	768	768	768	767	767
697	696	696	695	695	694	694	694	694	693
627	626	625	625	621	621	621	621	621	620
561	560	559	558	557	557	556	556	556	555
498	497	496	495	495	491	491	491	492	492
441	439	438	437	436	435	435	435	434	434
387	384	384	383	382	381	381	380	379	379
339	337	336	334	333	332	331	331	330	329
295	293	291	290	289	288	287	286	285	285
255	253	252	250	249	248	247	246	245	244
220	218	216	215	213	212	211	210	209	208
189	187	185	183	182	181	179	179	178	177
162	159	158	156	151	151	152	151	150	149
138	136	134	132	130	129	128	127	126	125
117	115	113	111	110	108	107	106	105	104
099	097	095	093	092	091	090	089	088	087
084	082	080	078	077	076	075	074	073	072
071	069	067	065	064	063	062	061	060	059
060	058	056	054	053	052	051	050	049	048
050	048	046	045	044	043	042	041	040	039
042	040	039	037	036	035	034	034	033	032
035	034	032	031	030	029	028	027	027	026
040	028	027	025	024	024	023	022	022	021
025	023	022	021	020	019	019	018	018	017
021	019	018	017	016	016	015	015	014	014

Значения вероятностей $P(|t| \geq t_1)$

$t_1 \backslash K$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,0	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
0,1	0,937	0,929	0,927	0,925	0,924	0,924	0,923	0,923	0,923	0,922
0,2	874	860	854	851	849	848	874	846	846	845
0,3	814	792	784	779	776	774	773	772	771	770
0,4	758	728	716	710	706	703	701	700	698	697
0,5	705	667	651	643	638	635	632	631	629	628
0,6	656	609	591	581	575	570	567	565	563	562
0,7	611	556	534	523	515	510	507	504	502	500
0,8	570	508	482	469	460	454	450	447	444	442
0,9	533	463	434	419	409	403	398	394	392	389
1,0	500	423	391	374	363	356	351	347	343	341
1,1	470	386	352	333	321	313	308	303	300	297
1,2	442	353	316	296	284	275	269	264	261	258
1,3	417	323	284	263	250	241	235	230	226	223
1,4	395	296	256	234	220	211	204	199	195	192
1,5	374	272	231	208	194	184	177	172	168	165
1,6	356	251	208	185	170	161	154	148	144	141
1,7	339	231	188	164	150	140	133	128	123	120
1,8	323	214	170	145	132	122	115	110	105	102
1,9	308	198	154	130	116	106	099	094	090	087
2,0	295	184	139	116	102	092	086	081	077	073
2,1	283	171	127	104	090	080	074	069	065	062
2,2	272	159	115	093	079	070	064	059	065	062
2,3	261	148	105	083	070	061	065	050	047	044
2,4	251	138	096	074	062	053	047	043	040	037
2,5	242	130	088	067	054	047	041	037	034	031
2,6	234	122	080	060	048	041	035	032	029	026
2,7	226	114	074	054	043	036	031	027	024	022

по рис. 1 р

t_1	
1,000	1,000
0,922	0,922
845	845
770	770
697	697
627	627
561	561
498	498
441	441
387	387
339	339
295	295
255	255
220	220
189	189
162	162
138	138
117	117
099	099
084	084
071	071
060	060
050	050
042	042
035	035
040	040
025	025
021	021

по риса ределению Стъюдента

Таблица 1

11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	∞
1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,0000
0,922	0,922	0,922	0,922	0,922	0,922	0,921	0,921	0,921	0,921	0,9203
845	845	845	844	844	844	844	844	844	844	8415
770	769	769	769	768	768	768	768	767	767	7642
697	696	696	695	695	694	694	694	694	693	6892
627	626	625	625	624	624	623	623	623	623	6171
561	560	559	558	557	557	556	556	556	555	5485
498	497	496	495	495	494	493	493	492	492	4839
441	439	438	437	436	435	435	434	434	433	4237
387	384	384	383	382	381	381	380	379	379	3681
339	337	336	334	333	332	331	331	330	329	3173
295	293	291	290	289	288	287	286	285	284	2713
255	253	252	250	249	248	247	246	245	244	2301
220	218	216	215	213	212	211	210	209	208	1936
189	187	185	183	182	183	179	179	178	177	1615
162	159	158	156	154	151	152	151	150	149	1386
138	136	134	132	130	129	128	127	126	125	0109
117	115	113	111	110	108	107	106	105	105	0896
099	097	095	093	092	091	090	089	088	087	0711
084	082	080	078	077	076	075	074	073	072	0579
071	069	067	065	064	063	062	061	060	059	0454
060	058	056	054	053	052	051	050	049	049	0355
050	048	046	045	044	043	042	041	040	040	0277
042	040	039	037	036	035	034	034	033	032	0218
035	034	032	031	030	029	028	027	027	026	0164
040	028	027	025	024	024	023	022	022	021	0124
025	023	022	021	020	019	019	018	018	017	0093
021	019	018	017	016	016	015	015	014	014	0069

Продолжение

[illegible]

корреляционная связь между интервалами времени скармливания биоветина (x) и привесами (y) и рассчитать коэффициент корреляции.

Вычисления производим по следующей схеме:

x	y	$(x-M_1)$	$(y-M_2)$	$(x-M_1) \cdot (y-M_2)$	$(x-M_1)^2$	$(y-M_2)^2$
4	0,33	+1,5	-0,03	-0,045	2,25	0,0009
3	0,35	+0,5	-0,01	-0,005	0,25	0,0001
2	0,37	-0,5	+0,01	-0,005	0,25	0,0001
1	0,38	-1,5	+0,02	-0,030	2,25	0,0004
10	1,43	—	—	-0,085	5,00	-0,0015

Средние величины: $M_1 = \frac{10}{4} = 2,5$ суток, $M_2 = \frac{1,43}{4} = 0,36$ кг.

Сумма произведений отклонений от средних $\Sigma (x - M_1) (y - M_2) = -0,085$; сумма квадратов отклонений первого ряда $\Sigma (x - M_1)^2 = 5$; сумма квадратов отклонений второго ряда $\Sigma (y - M_2)^2 = 0,0015$. Произведение сумм квадратов отклонений $\Sigma (x - M_1)^2 \cdot \Sigma (y - M_2)^2 = 5 \cdot 0,0015 = 0,0075$.

Среднее геометрическое

$$\sqrt{\Sigma (x - M_1)^2 \cdot \Sigma (y - M_2)^2} = \sqrt{0,0075} = 0,037.$$

Коэффициент корреляции рассчитываем по формуле (20).

$$r = \pm \frac{\Sigma (x - M_1) \cdot (y - M_2)}{\sqrt{\Sigma (x - M_1)^2 \cdot \Sigma (y - M_2)^2}} = - \frac{0,085}{0,087} = -0,96.$$

Таким образом, между интервалами времени скармливания биоветина и привесами поросят имеется тесная обратная корреляционная связь.

ОЦЕНКА ДОСТОВЕРНОСТИ КОЭФФИЦИЕНТА КОРРЕЛЯЦИИ

Находим общую степень свободы сравниваемых рядов, т. е. число пар значений. В данном случае $K = 5 - 1 = 4$. Обращаемся к таблице 2. В строке для K , равного 4, находим близкое к нашему значение $r = 0,9172$, которому отвечает вероятность (уровень значимости) $P = 0,01$. Вычисленный нами коэффициент r , равный $-0,96$, превышает табличное значение, следовательно, ему отвечает P , меньшее, чем 0,01, что полностью подтверждает достоверность найденного нами коэффициента корреляции r .

К	Р
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
25	
30	
35	
40	
45	
50	
60	
70	
80	
90	
100	

Значение γ для различных P и K

Таблица 2

$\begin{matrix} P \\ \backslash \\ K \end{matrix}$	0,1	0,05	0,02	0,01
1	0,98769	0,996917	0,9993660	0,9998766
2	0,90000	0,97000	0,98000	0,99000
3	0,8054	0,8783	0,93433	0,95873
4	0,7293	0,8114	0,8822	0,91720
5	0,6694	0,7545	0,8329	0,8745
6	0,6215	0,7067	0,7887	0,8313
7	0,5822	0,6664	0,7498	0,7977
8	0,5494	0,6319	0,7155	0,7646
9	0,5214	0,6021	0,6851	0,7348
10	0,4973	0,5760	0,6581	0,7079
11	0,4762	0,5529	0,6339	0,6835
12	0,4575	0,5324	0,6120	0,6614
13	0,4409	0,5139	0,5923	0,6411
14	0,4259	0,4973	0,5742	0,6226
15	0,4134	0,4821	0,5577	0,6055
16	0,4000	0,4683	0,5426	0,5897
17	0,3887	0,4555	0,5285	0,5751
18	0,3783	0,4433	0,5255	0,5614
19	0,3687	0,4329	0,5034	0,5487
20	0,3598	0,4227	0,4921	0,5368
25	0,3233	0,3809	0,4451	0,4869
30	0,2960	0,3494	0,4093	0,4487
35	0,2746	0,3246	0,3810	0,4182
40	0,2573	0,3044	0,3578	0,3932
45	0,2428	0,2875	0,3384	0,3721
50	0,2306	0,2732	0,3218	0,3551
60	0,2108	0,2500	0,2948	0,3248
70	0,1954	0,2319	0,2737	0,3017
80	0,1829	0,2172	0,2565	0,2830
90	0,1726	0,2050	0,2422	0,2673
100	0,1638	0,1916	0,2301	0,2540

Таблица 3

Статистическая оценка значений x $P (|a| \geq a_1)$

$n \backslash P$	0,05	0,02	0,01	0,001
2	15,561	38,973	77,964	779,696
3	4,969	8,042	11,460	36,486
4	3,558	5,077	6,530	14,468
5	3,041	4,105	5,043	9,432
6	2,777	3,635	1,355	7,409
7	2,616	3,360	3,963	6,370
8	2,508	3,180	3,711	5,733
9	2,431	3,053	3,536	5,314
10	2,372	2,959	3,409	5,014
11	2,327	2,887	3,310	4,791
12	2,291	2,829	3,233	4,618
13	2,261	2,782	3,170	4,481
14	2,236	2,743	3,118	4,360
15	2,215	2,710	3,075	4,276
16	2,197	2,683	3,038	4,198
17	2,181	2,658	3,006	4,131
18	2,168	2,637	2,997	4,074
19	2,156	2,618	2,953	4,024
20	2,145	2,602	2,932	3,979
21	2,135	2,587	2,912	3,941
22	2,127	2,575	2,895	3,905
23	2,119	2,562	2,880	3,874
24	2,112	2,552	2,865	3,845
25	2,105	2,541	2,852	3,819
26	2,099	2,532	2,840	3,796
27	2,094	2,524	2,830	3,775
28	2,088	2,517	2,820	3,755
29	2,083	2,509	2,810	3,737
30	2,079	2,503	2,802	3,719
40	2,048	2,456	2,742	3,602
60	2,018	2,411	2,633	3,492
120	1,988	2,368	2,628	3,388
∞	1,960	2,326	2,576	3,291

Д
тарно
приме
вания
ные к

ПРИЛОЖЕНИЕ

ПРИМЕРНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ ОБОРУДОВАНИЯ И РЕАКТИВОВ

Для проведения минимального объема исследований санитарно-зоогигиенические отделы лабораторий должны иметь примерно такое оборудование и набор реактивов (для исследования 100 проб кормов, органов и тканей животных на основные компоненты).

I. Оборудование

1) Площадь лаборатории	40—60 м ²
2) Шкафы	4—5 шт.
3) Столы разные	4—5 шт.
4) Стулья	7—8 шт.
5) Вытяжной шкаф	1 шт.
6) Весы технические с разновесом	2 шт.
7) Весы аналитические с разновесом	1 шт.
8) Муфельная печь	1—2 шт.
9) Центрифуга	1—2 шт.
10) Машины для измельчения проб кормов	1 шт.
11) Колориметр ФЭК-М	1 шт.
12) Рефрактометр РЛ или РДУ	1 шт.
13) Гемометр Сали	3 шт.
14) Колбы Кьельдаля на 500 мл	50 шт.
15) Колбы мерные на 250 мл	50 шт.
16) Колбы мерные на 100 мл	50 шт.
17) Колбы мерные на 1 л	2 шт.
18) Колбы Эрленмейера на 750 мл	20 шт.
19) То же на 250 мл	50 шт.
20) " " на 100 мл	50 шт.
21) " " на 1 л	10 шт.
22) Колбы плоскодонные на 250 мл	50 шт.
23) То же на 500 мл	50 шт.
24) Делительные воронки на 500 мл	10 шт.
25) Штативы Бунзена	3 шт.
26) Штативы для делительных воронок	1 шт.
27) Холодильники Либиха	2 шт.
28) Бачок для отгонки азота в кормах и кислотности силоса	1 шт.
29) Каплеуловители	10 шт.
30) Электроплитки	5 шт.
31) Пипетки на 5 мл	15 шт.
32) " " на 10 мл	15 шт.
33) " " на 15 мл	5 шт.
34) Цилиндры разные	10 шт.
35) Тигли фарфоровые разные	50 шт.
36) Воронки разные	50 шт.
37) Бумага фильтровальная	2 кг
38) Фильтры беззольные с спией лентой	5 пачек
39) Бани водяные	2 шт.
40) Пипетки на 1 и 2 мл	10 шт.

41) Колонки экстракционные	50 шт.
42) Ступки фарфоровые	5 шт.
43) Ножницы	2 шт.
44) Стекло битое	200 г
45) Штативы для колонок	3 шт.
46) Флаконы на 100 мл	50 шт.
47) Центрифужные пробирки	150 шт.
48) Бактериологические пробирки	250 шт.
49) Микробюретки на 1 и 2 мл	4 шт.
50) Пробирки большие	50 шт.
51) Штативы для пробирок метал.	6 шт.
52) Чашечки выпарительные маленькие	3 шт.
53) Глазные пипетки	2 шт.
54) Аппарат Киппа	1 шт.
55) Шкала для определения витамина А	1 шт.

II. Реактивы для определения в кормах:

1. Азота

1) Кислота серная х. ч.	2 кг
2) Пергидроль	3 кг
3) Фиксанал 0,1 н серной кислоты	1 коробка
4) Метилрот	20 г
5) Натрий едкий х. ч.	6 кг

2. Кальция

1) Аммиак 10%-ный	1 кг
2) Метилрот	20 г
3) Уксусная кислота х. ч.	500 г
4) Щавелевокислый аммоний	1 кг
5) Фиксанал KMnO_4 0,1 н	1 коробка

3. Фосфора

1) Аммоний молибденовокислый х. ч.	500 г
2) Серная кислота х. ч.	500 г
3) Гидрохинон х. ч.	500 г
4) Сернистокислый натрий	500 г

4. Кислот в силосе

1) Хлороформ	2 флакона
2) Дистиллированная вода	100 л
3) Фенолфталеин	30 г
4) Кислота серная х. ч.	—

5. Каротина

1) Бензин авиационный 70°	10 л
2) Азобензол	20 г
3) Окись алюминия	1 кг

III. Реактивы для определения в сыворотке крови:

1. Белков

1) Аммоний сернокислый х. ч.	1 кг
--------------------------------------	------

2. Сахара

1) Цинк сернокислый х. ч.	500 г
2) Натрий едкий х. ч.	500 г
3) Калий железосинеродистый (красная кровяная соль) х. ч.	200 г
4) Натрий углекислый безводный	500 г
5) Натрий хлористый	1 кг
6) Натрий йодистый	200 г
7) Уксусная кислота	500 г
8) Крахмал растворимый	100 г
9) Фиксанал гипосульфита	1 коробка

3. Кальция

1) Аммоний щавелевокислый х. ч.	500 г
2) Азотная кислота х. ч.	500 г
3) Фиксанал KMnO_4	1 коробка

4. Фосфора

1) Аммоний	500 г
2) Кислота серная х. ч.	500 г
3) Гидрохинон х. ч.	500 г
4) Сернистокислый натрий	500 г
5) Натрий углекислый безводный	500 г
6) Калий фосфорнокислый	100 г

5. Каротина

1) Бензин авиационный перегнанный при 70°	500 г
2) Спирт-ректификат	500 г

6. Кислотной емкости

1) Фиксанал 0,1 н соляной кислоты	1 коробка
2) Натрий едкий х. ч.	500 г
3) Фенолфталеин	50 г

7. Гемоглобина в крови

1) Фиксанал 0,1 н соляной кислоты	1 коробка
---	-----------

8. Витамин А в органах и яйцах птиц

1) Калий едкий х. ч.	5 кг
2) Спирт-ректификат	2,5 кг
3) Эфир наркозный	5 кг
4) Натрий сернокислый безводный	2 кг

9. Исследование на ацетон

1) Нитропруссидный натрий	100 г
2) Сернокислый аммоний	250 г
3) Углекислый натрий безводный	250 г

Таблица 1

Зависимость веса и объема воды от температуры

Темпе- ратура, °C	Вес 1 мл воды, г	Объем, занимаемый 1 г воды, мл	Темпе- ратура, °C	Вес 1 мл воды, г	Объем, занимаемый 1 г воды, мл
10	0,9987	1,0013	18	0,9976	1,0024
11	0,9986	1,0014	19	0,9974	1,0026
12	0,9984	1,0015	20	0,9972	1,0028
13	0,9983	1,0017	21	0,9970	1,0030
14	0,9982	1,0018	22	0,9967	1,0033
15	0,9981	1,0019	23	0,9965	1,0035
16	0,9979	1,0021	24	0,9963	1,0037
17	0,9977	1,0023	25	0,9960	1,0040

Таблица 2

Поправка на температуру в миллилитрах
на 1 л воды или водных растворов¹
(не свыше 0,1-нормальных)

Темпе- ратура, °C	Поправка, мл	Темпе- ратура, °C	Поправка, мл	Темпе- ратура, °C	Поправка, мл
10	+1,22	19	+0,17	28	-1,76
11	1,16	20	0,00	29	1,19
12	1,09	21	-0,19	30	2,30
13	0,98	22	0,38	31	2,59
14	0,88	23	0,59	32	2,88
15	0,76	24	0,88	33	3,18
16	0,63	25	1,03	34	3,49
17	0,49	26	1,26	35	3,80
18	0,34	27	1,51		

¹ При температуре 10—19° поправка прибавляется, при температуре 21—35°—вычитается.

Таблица 3

Удельные веса водных растворов кислот

Азотная кислота (при $\frac{20^\circ}{4^\circ}$)

Удельный вес	Процент HNO_3	Содержание HNO_3 в 1 л, г	Удельный вес	Процент HNO_3	Содержание HNO_3 в 1 л, г
1,004	1	10,04	1,328	53	703,7
1,009	2	20,19	1,334	54	720,1
1,015	3	30,44	1,339	55	736,6
1,020	4	40,80	1,345	56	753,1
1,026	5	51,28	1,351	57	769,8
1,031	6	61,87	1,356	58	786,5
1,037	7	72,58	1,361	59	803,2
1,043	8	83,42	1,367	60	820,0
1,054	10	105,4	1,372	61	836,9
1,060	11	116,6	1,377	62	853,7
1,066	12	127,9	1,382	63	870,5
1,072	13	139,4	1,380	64	887,4
1,078	14	150,9	1,391	65	904,3
1,084	15	162,6	1,396	66	921,3
1,090	16	174,4	1,400	67	938,3
1,096	17	186,4	1,405	68	955,3
1,103	18	198,5	1,409	69	972,3
1,109	19	210,7	1,413	70	989,4
1,121	21	235,5	1,418	71	1006
1,128	22	248,1	1,422	72	1024
1,134	23	260,8	1,426	73	1041
1,140	24	273,7	1,430	74	1058
1,147	25	286,7	1,434	75	1075
1,153	26	299,9	1,438	76	1093
1,160	27	313,2	1,441	77	1110
1,167	28	326,6	1,445	78	1127
1,173	29	340,3	1,449	79	1144
1,180	30	354,0	1,452	80	1162
1,187	31	367,9	1,456	81	1179
1,193	32	381,9	1,459	82	1196
1,200	33	396,1	1,462	83	1214
1,214	35	424,9	1,466	84	1231
1,221	36	439,4	1,469	85	1248
1,227	37	454,0	1,472	86	1266
1,234	38	468,7	1,475	87	1283
1,240	39	483,6	1,477	88	1300
1,246	40	498,5	1,480	89	1317
1,253	41	513,6	1,483	90	1334
1,259	42	528,8	1,485	91	1351
1,266	43	544,2	1,487	92	1368
1,272	44	559,6	1,489	93	1385
1,285	46	591,0	1,491	94	1402
1,291	47	606,8	1,493	95	1419
1,298	48	622,8	1,495	96	1435
1,304	49	639,0	1,497	97	1452
1,310	50	655,0	1,501	98	1471
1,316	51	671,2	1,506	99	1491
1,322	52	687,4	1,513	100	1513

Серная кислота (при $\frac{20^{\circ}}{4^{\circ}}$)

Удельный вес	Процент H_2SO_4	Содержание H_2SO_4 в 1 л, г	Удельный вес	Процент H_2SO_4	Содержание H_2SO_4 в 1 л, г
1,005	1	10,05	1,405	51	716,5
1,012	2	20,24	1,415	52	735,7
1,018	3	30,55	1,425	53	755,1
1,025	4	41,00	1,435	54	774,9
1,032	5	51,59	1,445	55	794,9
1,038	6	62,31	1,456	56	815,2
1,045	7	73,17	1,466	57	835,7
1,052	8	84,18	1,477	58	856,5
1,059	9	95,32	1,488	59	877,6
1,066	10	106,6	1,498	60	899,0
1,073	11	118,0	1,509	61	920,6
1,080	12	129,6	1,520	62	942,4
1,087	13	141,4	1,531	63	964,5
1,095	14	153,3	1,542	64	986,9
1,102	15	165,3	1,553	65	1010
1,109	16	177,5	1,565	66	1033
1,117	17	189,9	1,576	67	1056
1,124	18	202,4	1,587	68	1079
1,132	19	215,0	1,599	69	1103
1,139	20	227,9	1,611	70	1127
1,147	21	240,9	1,622	71	1152
1,155	22	254,1	1,634	72	1176
1,163	23	267,4	1,646	73	1201
1,170	24	280,9	1,657	74	1225
1,178	25	294,6	1,669	75	1252
1,186	26	308,4	1,681	76	1278
1,194	27	322,4	1,693	77	1303
1,202	28	336,6	1,704	78	1329
1,210	29	351,0	1,716	79	1355
1,219	30	365,6	1,727	80	1382
1,227	31	380,3	1,738	81	1408
1,235	32	395,2	1,749	82	1434
1,243	33	410,3	1,759	83	1460
1,252	34	425,5	1,769	84	1486
1,260	35	441,0	1,779	85	1512
1,268	36	456,0	1,787	86	1537
1,277	37	472,5	1,795	87	1562
1,286	38	488,5	1,802	88	1586
1,294	39	504,7	1,809	89	1,610
1,303	40	521,1	1,814	90	1,633
1,312	41	537,8	1,819	91	1,656
1,321	42	554,6	1,824	92	1,678
1,329	43	571,6	1,828	93	1,700
1,338	44	588,9	1,8312	94	1,721
1,348	45	606,4	1,8337	95	1,742
1,357	46	624,2	1,8355	96	1,762
1,366	47	642,2	1,8364	97	1,781
1,376	48	660,4	1,8367	98	1,790
1,385	49	678,8	1,8372	99	1,816
1,395	50	697,6	1,8375	100	1,831

Соляная кислота (при $\frac{20^{\circ}}{4^{\circ}}$)

Удельный вес	Процент HCl	Содержание HCl в 1 л, г	Удельный вес	Процент HCl	Содержание HCl в 1 л, г
1,003	1	10,03	1,108	22	243,8
1,008	2	20,16	1,119	24	268,5
1,018	4	40,72	1,129	26	293,5
1,028	6	61,57	1,139	28	319,0
1,038	8	83,01	1,149	30	344,8
1,047	10	104,7	1,159	32	371,0
1,057	12	126,9	1,169	34	397,5
1,068	14	149,5	1,179	36	424,4
1,078	16	172,4	1,189	38	451,6
1,088	18	195,8	1,198	40	479,2
1,098	20	219,6	—	—	—

Уксусная кислота (при $\frac{15^{\circ}}{4^{\circ}}$)

Удельный вес	Концентрация CH_3COOH , %	Удельный вес	Концентрация CH_3COOH , %	Удельный вес	Концентрация CH_3COOH , %
1,0007	1	1,0284	20	1,0712	65
1,0022	2	1,0350	25	1,0733	70
1,0037	3	1,0412	30	1,0746	75
1,0052	4	1,0470	35	1,0748	80
1,0067	5	1,0523	40	1,0739	85
1,0098	7	1,0571	45	1,0713	90
1,0142	10	1,0615	50	1,0660	95
1,0185	13	1,0652	55	1,0553	100

Примечание. Наибольший удельный вес 80%-ной уксусной кислоты—1,0748. Удельному весу 1,0553—1,0713 соответствует кислота с двойными концентрациями. Для того чтобы узнать, какая кислота, необходимо два раза определить ее удельный вес: один раз в имеющейся кислоте и второй раз после разбавления кислоты в два раза водой.

Таблица 4

Удельные веса водных растворов щелочей

Аммиак (при $\frac{20^\circ}{4^\circ}$)

Удельный вес	Процент NH_3	Содержание NH_3 в 1 л, г	Удельный вес	Процент NH_3	Содержание NH_3 в 1 л, г
0,994	1	9,94	0,936	16	149,8
0,990	2	19,79	0,930	18	167,3
0,981	4	39,24	0,923	20	184,6
0,973	6	58,38	0,916	22	201,6
0,965	8	77,21	0,904	26	235,0
0,958	10	95,75	0,898	28	251,4
0,950	12	114,0	0,892	30	267,6
0,943	14	132,0			

Едкий кали (при $\frac{15^\circ}{4^\circ}$)

Удельный вес	Процент КОН	Содержание КОН в 1 л, г	Удельный вес	Процент КОН	Содержание КОН в 1 л, г
1,007	0,9	9	1,252	27,0	338
1,014	1,7	17	1,263	28,0	353
1,022	2,6	26	1,274	28,9	368
1,029	3,5	36	1,285	29,8	385
1,037	4,5	46	1,297	30,7	398
1,045	5,6	58	1,308	31,8	416
1,052	6,4	67	1,320	32,7	432
1,060	7,4	78	1,332	33,7	449
1,067	8,2	88	1,345	34,9	469
1,075	9,2	99	1,357	35,9	487
1,083	10,1	109	1,370	36,9	506
1,091	10,9	119	1,383	37,8	522
1,100	12,0	132	1,397	38,9	543
1,108	12,9	143	1,410	39,9	563
1,116	13,8	153	1,424	40,9	582
1,125	14,8	167	1,438	42,1	605
1,134	15,7	178	1,453	43,4	631
1,142	16,5	188	1,468	44,6	655
1,152	17,6	203	1,483	45,8	679
1,162	18,6	216	1,498	47,1	706
1,171	19,5	228	1,514	48,3	731
1,180	20,5	242	1,530	49,4	756
1,190	21,4	255	1,546	50,6	779
1,200	22,4	269	1,563	51,9	811
1,210	23,3	282	1,580	53,2	840
1,220	24,2	295	1,597	54,5	870
1,231	25,1	309	1,615	55,9	902
1,241	26,1	324	1,634	57,5	940

Едкий натр. (при $\frac{20^{\circ}}{4^{\circ}}$)

Удельный вес	Процент NaOH	Содержание NaOH в 1 л, г	Удельный вес	Процент NaOH	Содержание NaOH в 1 л, г
1,010	1	10,10	1,241	22	273,0
1,021	2	20,41	1,263	24	303,1
1,032	3	30,95	1,285	26	334,0
1,043	4	41,71	1,306	28	365,8
1,054	5	52,69	1,328	30	398,4
1,065	6	63,89	1,349	32	431,7
1,076	7	75,31	1,370	34	465,7
1,087	8	86,95	1,390	36	500,4
1,098	9	98,81	1,410	38	535,8
1,109	10	110,9	1,430	40	572,0
1,131	12	135,7	1,449	42	608,7
1,153	14	161,4	1,469	44	646,1
1,175	16	188,0	1,487	46	684,2
1,197	18	215,5	1,507	48	723,1
1,219	20	243,8	1,525	50	762,7

Таблица 5

Удельный вес и концентрация этилового спирта (при 15°)

Удельный вес	Весовой процент спирта	Объемный процент спирта	Удельный вес	Весовой процент спирта	Объемный процент спирта
0,8590	75,59	81,80	0,8390	83,69	88,66
80	76,04	82,19	80	84,08	88,76
70	76,46	82,54	70	84,48	89,08
60	76,88	82,90	60	84,88	89,39
50	77,29	83,25	50	85,27	89,70
40	77,71	83,60	40	85,65	89,99
30	78,12	83,94	30	86,04	90,29
20	78,52	84,27	20	86,42	90,58
10	78,92	84,16	10	86,81	90,88
00	79,32	84,03	00	87,19	91,17
0,8490	79,72	85,26	0,8290	87,58	91,46
80	80,13	85,59	80	87,96	91,75
70	80,54	85,94	70	88,36	92,05
60	80,96	86,26	60	88,76	92,36
50	81,26	86,61	50	89,16	92,66
40	81,76	86,93	40	89,54	92,94
30	82,15	87,24	0,8230	89,92	93,23
20	82,54	87,55	20	90,29	93,49
10	82,92	87,85	10	90,64	93,75
00	83,31	88,16	00	91,00	94,00
			0,8190	91,36	94,26

Продолжение

Удельный вес	Весовой процент спирта	Объемный процент спирта	Удельный вес	Весовой процент спирта	Объемный процент спирта
0,8180	91,71	94,51	30	97,03	98,16
70	92,07	94,76	20	97,37	98,37
60	92,44	95,03	10	97,70	98,59
50	92,81	95,29	00	98,03	98,80
40	93,18	95,55			
30	93,55	95,82	0,7990	98,34	98,93
20	93,92	96,08	80	98,66	99,16
10	94,28	96,32	70	98,97	99,35
00	94,62	96,55	60	99,29	99,55
			50	99,61	99,75
0,8090	94,97	96,78	40	99,94	99,96
80	95,32	96,92			
70	95,68	97,27	0,7939	99,97	96,96
60	96,03	97,51			
50	96,37	97,73			
40	96,70	97,94			
			Абсолютный спирт		
			0,7938	100,0	100,0

Таблица 6

Определение крахмала и сухого вещества
в картофеле по удельному весу

Вес 5 кг картофеля в воде, г	Удельный вес	Сухое вещество, %	Крахмал, %
295	1,0627	15,948	10,232
300	1,0638	16,219	10,468
305	1,0650	16,476	10,724
310	1,0660	16,711	10,959
315	1,0672	16,947	11,195
320	1,0684	17,204	11,452
325	1,0695	17,439	11,687
330	1,0706	17,696	11,944
335	1,0718	17,931	12,179
340	1,0730	18,188	12,436
345	1,0741	18,422	12,671
350	1,0752	18,680	12,923
355	1,0764	18,916	13,164
360	1,0776	19,172	13,420
365	1,0787	19,408	13,656
370	1,0799	19,665	13,913
375	1,0811	19,931	14,169
380	1,0822	20,157	14,405
385	1,0834	20,414	14,662
390	1,0846	20,670	14,918
395	1,0858	20,927	15,175
400	1,0870	21,184	15,432

Продолжение

Вес 5 кг картофеля в воде, г	Удельный вес	Сухое вещество, %	Крахмал, %
405	1,0881	21,419	15,667
410	1,0893	21,676	15,924
415	1,0905	21,933	16,181
420	1,0917	22,190	16,438
425	1,0929	22,447	16,695
430	1,0941	22,703	16,951
435	1,0953	22,960	17,208
440	1,0965	23,217	17,465
445	1,0977	23,474	17,722
450	1,0989	23,731	17,979
455	1,1001	23,987	18,235
460	1,1013	24,244	18,492
465	1,1025	24,501	18,746
470	1,1038	24,779	19,027
475	1,1050	25,036	19,284
480	1,1062	25,293	19,541
485	1,1074	25,549	19,797
490	1,1086	25,806	20,054
495	1,1090	26,085	20,333
500	1,1111	26,341	20,589
505	1,1123	26,598	20,846
510	1,1136	26,876	21,124
515	1,1148	27,133	21,381
520	1,1161	27,411	21,659
525	1,1173	27,668	21,916
530	1,1186	27,946	22,194
535	1,1198	28,203	22,451
540	1,1211	28,481	22,623
545	1,1224	28,760	23,008
550	1,1236	29,016	23,264
555	1,1249	29,295	23,543
560	1,1261	29,551	23,799
565	1,1274	29,830	24,078
570	1,1286	30,086	24,334
575	1,1299	30,365	24,613
580	1,1312	30,643	24,891
585	1,1325	30,921	25,169
590	1,1338	31,199	25,447
595	1,1351	31,477	25,725
600	1,1364	31,756	26,004
605	1,1377	32,034	26,282
610	1,1390	32,313	26,560
615	1,1403	32,590	26,888
620	1,1416	32,868	27,116
625	1,1429	33,147	27,395
630	1,1442	33,425	27,673
635	1,1455	33,703	27,951
640	1,1468	33,981	28,229
645	1,1481	34,259	28,507
650	1,1494	34,537	28,786
655	1,1507	34,815	29,064
660	1,1521	35,115	29,303

Таблица 7

Содержание макроэлементов в кормах и добавках
различных зон Омской области, по данным
исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ
в 1963—1966 гг.
(средние показатели)

Вид корма	Зона	Исследовано проб	Содержится в 1 кг сухого корма (в среднем)					
			перевари- мый про- теин	кальций	фосфор	магний	натрий	калий
Сено естественных лугов								
Луговое	таежная	6	48,2	6,0	2,7	2,5	0,3	10,1
	подтаежн.	13	46,8	6,5	2,0	2,3	0,5	10,0
	лесостепн.	7	43,0	6,2	2,0	2,2	0,7	10,0
Суходольное	таежная	1	40,1	10,6	2,3	1,2	1,1	12,0
	подтаежн.	2	51,3	11,8	2,0	0,9	0,4	7,0
Осоковое	таежная	3	36,2	5,6	1,6	1,3	0,6	6,2
	подтаежн.	10	37,5	5,5	1,9	1,6	0,5	9,0
	лесостепн.	9	40,6	6,5	2,0	1,9	0,6	7,7
Пырейно-луговое	подтаежн.	2	34,8	2,6	1,1	1,3	0,2	8,0
	лесостепн.	1	39,4	2,5	1,1	2,4	—	6,7
Разногравное	подтаежн.	3	45,6	4,9	1,8	1,6	0,7	4,0
	лесостепн.	5	58,1	6,4	2,1	2,3	1,0	7,0
	степная	2	69,7	8,6	1,9	3,6	2,0	12,5
Лесное	подтаежн.	1	30,5	12,8	2,3	2,3	0,2	4,5
	лесостепн.	4	45,6	8,3	2,1	2,0	0,5	7,1
Солончаковое	лесостепн.	1	26,4	12,0	1,5	1,1	0,7	12,0
Сено сеяных трав								
Клеверное	таежная	3	54,7	9,4	2,2	4,4	0,7	10,5
	подтаежн.	6	45,0	7,3	2,3	3,3	0,7	10,5
	лесостепн.	1	49,9	13,6	2,4	3,4	0,4	14,5
Костровое	лесостепн.	6	44,5	2,8	1,5	1,8	0,7	9,0
	степная	7	38,2	4,6	1,1	1,7	0,6	8,0
Пырейное	лесостепн.	3	34,5	2,9	1,5	2,4	1,1	7,5
	степная	1	54,3	1,6	1,2	2,2	1,2	15,0
Донниковое	лесостепн.	1	74,2	10,6	1,8	1,2	0,4	22,3
Люцерновое	лесостепн.	3	73,1	14,7	1,6	1,7	0,4	10,1
Могаровое	лесостепн.	1	49,3	12,2	1,5	4,3	1,3	15,5
Регнерия	лесостепн.	1	19,6	17,2	0,6	1,2	—	10,7
Зеленка (овсяная)	лесостепн.	4	67,7	4,2	1,9	1,8	0,5	7,7
	степная	1	28,0	14,6	0,6	2,1	—	12,2
Зеленка (овес с горохом)	лесостепн.	2	72,8	5,8	2,0	1,9	0,7	10,5
Зеленка ячменная	лесостепн.	1	67,0	4,8	1,0	2,3	1,6	13,0
Зеленка просяная	степная	1	51,9	3,3	1,5	2,9	0,5	6,0
	лесостепн.	1	61,2	3,2	2,5	3,3	0,2	14,0

Вид корма	Зона	Исследовано проб	Содержится в 1 кг сухого корма (в среднем)					
			перевари- мы про- тени	кальций	фосфор	магний	натрий	калий
Кукуруза (зеле- ная масса, стеб- ли с листьями (в период силос- сования)	лесостепн.	4	59,7	4,7	1,9	3,4	1,0	13,0
	подтаежн.	3	52,2	4,2	2,2	3,6	0,8	9,4
	степная	2	62,2	4,3	1,4	3,3	0,8	15,0
Кукуруза с боба- ми (зеленая масса)	таежная	1	69,4	4,1	3,5	2,5	0,4	22,5
Кукуруза с под- солн. (зеленая масса)	лесостепн.	1	64,6	7,9	2,6	6,6	0,5	17,7
Подсолнечник (зе- леная масса)	таежная	1	57,1	15,6	2,6	6,8	0,7	24,0
	подтаежн.	3	65,6	13,8	2,2	6,1	0,8	17,6
	лесостепн.	2	78,2	13,7	1,9	6,6	1,5	23,0
Силос								
Кукурузный	таежная	3	50,3	15,3	2,3	2,0	0,5	11,5
	подтаежн.	7	52,8	14,7	2,6	3,7	0,8	14,8
	лесостепн.	16	49,7	12,6	2,2	2,7	0,8	11,1
	степная	8	50,2	15,6	2,2	2,7	0,8	9,5
Подсолнечников.	таежная	1	42,0	9,0	2,0	0,9	1,2	12,0
	подтаежн.	1	52,6	15,6	2,0	6,7	1,5	7,5
	лесостепн.	5	55,3	12,1	2,0	3,7	1,0	13,4
	лесостепн.	2	55,5	13,4	2,5	6,0	1,7	8,8
Кукур.-подсолн.	таежная	1	43,0	11,4	2,3	5,3	0,6	6,0
Подсолн. с овсом	лесостепн.	1	56,0	16,4	2,0	2,0	0,9	14,5
Кукур. с мочевины.	лесостепн.	1	47,6	15,9	2,0	1,8	0,7	17,5
Кукур. с формал.	таежная	1	62,2	19,6	2,4	0,9	0,1	7,6
Овсяно-горох.	таежная	1	106,4	16,3	3,3	1,3	0,5	8,5
Овсяный	лесостепн.	1	48,0	7,6	1,3	1,9	0,6	8,3
Естествен. трава								
Трава лугов и пастбищ								
Луговая	таежная	1	68,8	9,4	2,8	3,6	0,2	40,7
	подтаежн.	2	56,4	8,8	2,9	3,0	0,3	53,5
	лесостепн.	4	92,6	9,2	2,8	2,4	0,7	37,0
	степная	1	98,8	6,8	3,3	1,2	0,6	33,0
Сеяные травы								
Костровая	лесостепн.	1	157,4	11,0	5,2	1,2	0,7	—
Солома								
Пшеничная	таежная	5	11,1	6,0	1,1	1,3	0,5	8,3
	подтаежн.	7	10,4	4,1	0,6	1,2	0,3	8,5
	лесостепн.	16	11,5	5,9	1,5	1,5	0,4	6,6
	степная	6	14,6	7,8	1,0	1,3	0,8	10,0
Ржаная	таежная	2	7,2	7,6	0,9	0,9	0,1	10,5
	подтаежн.	3	8,0	6,4	0,8	1,2	0,2	11,5

Продолжение

Вид корма	Зона	Исследовано проб	Содержится в 1 кг сухого корма (в среднем)					
			переваримый протеин	кальций	фосфор	магний	натрий	калий
Овсяная	подтаежн.	3	16,1	7,2	1,0	1,7	0,4	10,0
Ячменная	лесостепн.	2	20,8	8,5	1,3	2,0	0,3	12,5
	лесостепн.	5	39,9	5,3	1,3	1,8	0,8	8,6
Просьяная	степная	1	24,4	7,6	0,8	1,2	1,3	8,8
Гороховая	лесостепн.	1	23,8	10,2	1,8	1,9	0,4	13,5
	подтаежн.	2	44,3	11,2	1,0	3,8	0,9	9,4
Мякина								
Мякина пшеничн.	лесостепн.	1	35,9	10,4	1,5	3,0	0,5	8,0
Мякина ячменная	степная	2	50,4	3,0	2,2	1,8	0,7	14,7
Корнеплоды и корнеклубнеплоды								
Свекла кормовая	лесостепн.	8	86,7	9,1	2,1	2,7	2,0	17,2
Свекла сахарная	лесостепн.	2	52,7	13,8	2,0	3,9	2,5	25,1
Свекла красная	лесостепн.	1	65,2	12,9	1,4	3,6	2,6	22,9
Турнепс	лесостепн.	1	44,6	6,5	1,3	2,5	2,5	11,9
Морковь	лесостепн.	1	71,4	2,8	2,5	2,4	0,6	22,0
Картофель	таежная	3	62,9	6,6	2,2	4,0	0,3	18,5
	подтаежн.	2	52,9	1,9	2,4	1,4	0,9	15,4
Брюква	лесостепн.	2	85,9	1,7	2,2	1,8	2,0	7,4
	степная	1	76,9	2,6	2,1	1,7	1,0	8,0
Ботва кормовой свеклы	лесостепн.	1	154,8	3,2	2,9	3,3	0,3	19,0
„ брюквы	лесостепн.	3	121,5	15,6	1,5	9,5	0,9	51,0
„ моркови	степная	1	98,0	6,9	2,1	5,2	0,9	31,2
Концентрированные корма	лесостепн.	1	81,3	7,2	1,3	3,8	1,5	16,0
	лесостепн.	1	63,5	16,3	3,3	5,2	0,9	17,5
Комбикорм								
Овсяная дерть	таежная	2	88,7	11,9	2,5	1,4	0,1	6,5
	подтаежн.	2	107,2	11,9	4,6	2,1	1,3	6,0
	лесостепн.	9	104,8	12,0	4,6	2,9	1,1	12,1
	степная	1	104,5	17,0	5,5	3,7	1,0	5,4
Ячменная дерть	таежная	1	61,8	6,8	4,2	2,1	—	3,6
	подтаежн.	3	76,1	7,1	2,5	1,4	0,5	4,3
Комбикорм для птиц	лесостепн.	2	99,0	13,7	5,3	2,6	0,6	6,0
	лесостепн.	2	84,3	10,8	2,7	3,1	0,8	6,8
Овес	лесостепн.	1	143,0	5,6	3,5	3,6	2,2	3,2
Ячмень	лесостепн.	1	95,9	6,2	1,6	2,1	0,0	2,0
	лесостепн.	3	109,9	4,0	2,5	2,5	0,4	10,0
Просо	степная	2	80,6	5,0	2,6	2,3	0,2	14,2
Горох	лесостепн.	2	113,0	4,0	1,9	1,8	0,2	11,0
Бобы	лесостепн.	2	182,0	6,6	2,6	1,6	0,7	16,2
	лесостепн.	1	158,0	11,6	1,8	2,1	0,3	6,2

Продолжение

Вид корма	Зона	Исследовано проб	Содержится в 1 кг сухого корма (г в среднем)					
			перевари- мый про- теин	кальций	фосфор	магний	натрий	калий
Рожь	лесостепн.	1	109,0	5,6	2,3	1,5	0,35	12,5
Пшеница	лесостепн.	1	111,0	6,7	2,1	3,7	0,1	13,7
Отходы пшеницы	степная	1	100,0	3,5	2,7	3,3	0,1	14,7
Зерновые отходы	лесостепн.	3	110,9	7,0	2,3	2,8	0,4	8,6
	степная	2	90,8	9,0	3,7	2,9	0,6	5,0
Мука ячменная	лесостепн.	2	88,8	6,1	4,8	2,1	0,2	2,4
Мука пшеничная	лесостепн.	1	72,9	7,9	2,3	1,2	—	4,0
Мука овсяная	лесостепн.	1	81,5	5,8	2,1	1,2	—	2,6
Жмых льняной	подтаежн.	1	216,0	4,5	8,2	—	0,4	34,3
Жмых подсолн.	подтаежн.	1	211,9	8,4	8,6	4,8	0,2	8,5
Жмых хлопчат- ников.	лесостепн.	2	200,0	2,7	7,0	4,2	0,3	10,2
Шрот соевый	лесостепн.	2	278,3	12,7	3,3	2,7	1,6	12,5
Шрот подсолнечн.	лесостепн.	1	373,5	8,8	9,7	4,0	—	8,5
Мука сенная	лесостепн.	1	76,6	7,5	3,1	1,2	—	19,4
Корма животного происхождения								
Мука крабовая	подтаежн.	1	—	113,7	16,5	2,75	1,7	—
Молоко коровье	таежная	4	33,3	1,7	0,97	0,21	3,9	8,8
	подтаежн.	6	34,4	1,6	0,89	0,20	3,7	8,8
	лесостепн.	14	31,6	1,5	0,98	0,20	4,8	11,7
	степная	3	40,0	1,6	0,96	0,20	4,6	11,3
Прочие корма и минеральные витаминные добавки								
Мох сфагновый	подтаежн.	1	31,5	2,9	1,3	4,8	0,5	22,0
Хвоя ели		1	66,8	1,2	1,2	1,5	0,1	4,75
Хвоя сосны		1	90,0	1,1	1,3	1,4	0,0	3,75
Хвоя пихты		1	85,6	4,7	1,2	0,7	0,0	3,75
Хвоя кедра		1	78,0	1,8	2,5	0,6	0,1	5,65
Березовые ветки (зимние)		1	54,6	0,8	1,6	1,0	0,4	2,50
Травянистые коч- ки в средн.		1	207,0	6,2	0,7	0,5	0,4	2,50
Дернина		1	179,4	1,3	0,7	1,0	0,1	40,0
Щетинник (пе- тушье просо, мышей)		2	50,0	3,4	3,3	3,5	0,08	4,7
Сапропель		289	87,5	95,0	1,2	11,0	15,0	—
Мергель		14	—	239,0	0,6	8,7	1,6	2,1
Глина красная		2	—	11,4	0,3	1,3	1,4	—
Древесная зола (смешанных по- род)		1	—	84,0	16,0	45,0	13,7	55,0
Дрожжи жидкие		1	32,5	1,6	1,7	1,4	0,3	5,25

Таблица 8

Содержание микроэлементов в кормах и добавках
различных зон Омской области, по данным исследований
лаборатории зоогигиены СибНИВИ в 1963 — 1966 гг.

(средние показатели)

Вид корма	Зона	Исследо- вано проб	Содержится в 1 кг сухого корма (мг в среднем)				
			желе- зо	медь	цинк	марга- нец	каро- тин ¹
1	2	3	4	5	6	7	8
Сено естественных лугов							
Луговое	таежная	6	135,5	7,0	46,0	63,5	7,2
	подтаежн.	13	156,2	7,6	40,9	50,2	10,5
	лесостепн.	7	246,0	10,0	40,0	59,5	20,1
Суходольное	таежная	1	153,0	6,5	35,0	45,0	18,8
	подтаежн.	2	—	—	—	—	5,7
Осоковое	таежная	3	246,0	7,5	20,0	55,0	5,6
	подтаежн.	10	135,5	6,0	27,7	56,5	6,0
	лесостепн.	9	250,5	5,7	26,8	42,5	14,4
Пырейно-луговое	подтаежн.	2	126,0	7,6	15,0	46,0	16,0
	лесостепн.	1	82,0	8,0	7,8	13,1	следы
Разнотравное	подтаежн.	3	84,0	4,5	23,7	46,8	3,3
	лесостепн.	5	230,0	7,0	25,0	45,0	17,1
	степная	2	348,0	10,0	15,0	57,5	12,6
Лесное	лесостепн.	4	250,0	7	17,0	36,5	8,1
Солончаковое	лесостепн.	—	234,0	6,0	25,0	39,5	5,2
Сено сеяных трав							
Клеверное	таежная	3	107,0	9,5	47,5	56,5	10,2
	подтаежн.	6	83,0	7,5	35,0	52,0	10,0
	лесостепн.	1	—	—	—	—	6,1
Костровое	лесостепн.	6	214,0	7,0	20,6	45,3	10,8
	степная	7	200,0	7,0	10,0	40,5	16,9
Пырейное	лесостепн.	3	120,8	6,1	33,0	42,4	13,40
	степная	1	176,0	12,5	17,5	45,0	17,9
Донниковое	лесостепн.	1	67,0	5,7	16,0	5,5	1,4
Кюцеровое	лесостепн.	3	150,1	8,1	20,1	42,0	3,2
Могаровое	лесостепн.	1	169,0	9,0	50,0	57,5	16,2
Регнерия	лесостепн.	1	87,0	6,1	9,45	9,11	8,4
Зеленка (овсяная)	лесостепн.	4	175,0	7,6	20,8	35,8	14,2
	степная	1	145,0	10,2	12,0	45,0	9,5
Зеленка (ячмен- ная)	лесостепн.	1	188,0	6,0	22,5	48,5	2,5
	степная	1	392,0	8,0	19,3	45,0	2,4
Зеленка (прося- ная)	лесостепн.	1	120,0	6,0	17,5	46,0	22,0
	лесостепн.	2	404,0	12,0	25,7	48,5	10,7

¹ Каротин при натуральной влажности.

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8
Кукуруза (зеленая масса, стебли с листьями в период силосования)	подтаежн. лесостепн. степная	3 4 2	188,6 166,5 207,0	9,6 8,0 10,7	54,4 33,4 38,0	57,5 57,5 42,2	4,4 6,7 13,9
Кукуруза с бобами (зеленая масса)	таежная	1	129,0	7,2	47,5	37,5	2,0
Кукуруза с подсолнечником (зеленая масса)	лесостепн.	1	141,0	14,2	53,5	46,0	27,9
Подсолнечник (зеленая масса)	таежная	1	118,0	25,0	103,5	75,0	15,8
	подтаежн. лесостепн.	3 2	181,6 232,0	23,2 16,9	94,8 89,2	68,2 56,0	6,0 10,0
Силос							
Кукурузный	таежная	3	310,0	4,5	10,5	29,0	20,7
	подтаежн. лесостепн.	7 16	483,0 539,4	6,9 8,9	58,4 34,4	57,7 46,8	29,7 19,6
	степная	8	370,0	10,4	72,9	83,4	14,3
Подсолнечников.	таежная	1	804,0	7,5	42,5	55,0	41,0
	подтаежн. лесостепн.	1 5	512,0 347,0	11,5 11,1	87,5 54,8	57,5 41,8	45,2 30,0
Кукурузн.-подсолн.	лесостепн.	2	414,0	7,0	122,5	67,5	16,7
Подсолн. с овсом	таежная	1	994,0	6,0	52,5	42,5	38,0
Кукурузн. с мочевиной.	лесостепн.	1	—	—	—	—	3,4
Кукурузн. с формал.	лесостепн.	1	—	—	—	—	14,1
Овсяно-горохов.	таежная	1	—	—	—	—	2,7
Овсяный	таежная	1	—	—	—	—	29,9
Естест. травы	лесостепн.	1	224,0	8,6	20,0	42,5	15,8
Трава лугов и пастбищ							
Луговая	таежная	1	120,0	5,0	22,0	30,0	34,1
	подтаежн. лесостепн.	2 4	118,0 312,6	5,5 7,9	31,6 26,7	48,0 67,7	70,0 50,2
	степная	1	293,0	—	28	102,5	39,4
Сеяные травы							
Костровая	лесостепн.	1	30,0	4,0	28,0	64,0	54,8
Солома							
Пшеничная	таежная	5	101,0	5,2	16,1	49,6	4,2
	подтаежн. лесостепн.	7 16	195,5 292,0	5,2 6,0	20,8 12,9	41,7 40,8	3,1 2,4
	степная	6	181,0	4,0	12,3	60,1	3,1
Ржаная	таежная	2	100,0	8,5	15,0	38,5	следы
	подтаежн.	3	114,6	5,0	13,0	46,2	5,3

Продолжение

1	2	3	4	6	6	7	8
Овсяная	подтаежн.	3	127,0	7,0	39,0	52,5	3,2
	лесостепн.	2	93,0	10,0	40,0	55,0	4,8
Ячменная	лесостепн.	5	129,5	10,7	30,5	42,5	4,6
	степная	1	109,0	10,0	15,0	44,0	следы
Гороховая	подтаежн.	1	114,0	8,7	39,2	60,0	следы
	лесостепн.	3	133,6	8,7	43,0	50,0	3,44
Просьяная	лесостепн.	1	176	9	15	42,5	2,1
Мякина пшенич- ная	лесостепн.	1	144	8,8	35,0	70,0	нет
Мякина ячмен.	степная	1	192	9,5	89,5	42,5	нет
Корнеплоды и корне- клубнеплоды							
Свекла сахарная	лесостепн.	2	217,0	6,1	32,0	60,0	следы
Свекла кормовая	лесостепн.	8	199,0	13,6	37,7	37,6	следы
Свекла красная	лесостепн.	1	168,0	6,8	108,0	52,7	1,7
Турнепс	лесостепн.	1	—	—	—	—	—
Морковь	лесостепн.	2	181,0	5,1	30	43,5	42,0
Картофель	таежная	3	272,0	8,0	40,0	42,5	нет
	подтаежн.	2	—	6,7	55,0	42,5	нет
	лесостепн.	2	338,0	8,5	33,7	40,0	нет
	степная	1	302,0	5,0	15,0	42,5	нет
Брюква	лесостепн.	1	121,0	6,3	60,0	46,0	нет
Ботва кормовой свеклы	лесостепн.	3	209,3	12,1	93,0	84,8	14,3
" брюквы	степная	1	224	14,0	74,0	77,5	14,7
" моркови	лесостепн.	1	105	13,0	30,0	45,0	7,3
	лесостепн.	1	220	10,7	35,0	38,5	14,6
Концентриро- ванные корма							
Комбикорм	таежная	2	—	—	—	—	—
	подтаежн.	2	—	—	—	—	—
	лесостепн.	9	115,2	12,7	49,5	60,5	следы
	степная	1	110,0	5,5	30,3	21,7	"
Овсяная дерть	таежная	1	47,0	7,5	82,5	50,0	"
	подтаежн.	3	92,0	5,0	47,3	36,3	"
	лесостепн.	2	185,0	6,0	23,1	21,0	"
Ячменная дерть	лесостепн.	2	127,0	5,3	38,2	35,0	"
Комбикорм для птиц	лесостепн.	1	126,0	—	62,5	42,5	"
Овес	лесостепн.	1	113,0	—	42,5	32,5	"
Ячмень	лесостепн.	3	78,0	10,0	57,5	37,5	нет
Просо	степная	2	162,0	7,9	42,5	41,7	нет
	лесостепн.	2	73,0	11,5	40,0	42,5	нет
Горох	лесостепн.	2	108,0	10,0	70,0	40,0	нет
Бобы	лесостепн.	1	384,0	16,8	70,0	42,5	нет
Рожь	лесостепн.	1	128	8,5	13,8	50,2	нет
Пшеница	лесостепн.	1	126	7,2	62,5	37,0	нет
Отходы пшенич- ные	лесостепн.	1	193	3,7	37,5	37,5	нет

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8
Зерновые отходы	лесостепн.	3	272,0	8,1	53,3	41,6	нет
	степная	2	282,0	5,5	47,7	51,2	нет
Мука ячменная	лесостепн.	2	408,0	6,0	15,9	21,0	нет
Мука пшеничная	лесостепн.	1	120,0	8,0	8,9	20,7	нет
Мука овсяная	лесостепн.	1	82,0	—	25,0	44,4	нет
Жмых льняной	подтаежн.	1	52,0	5,7	14,0	17,0	нет
Жмых хлопчатн.	лесостепн.	2	152,0	24,0	132,5	52,5	нет
Шрот соевый	лесостепн.	2	182,0	22,5	57,5	47,5	нет
Шрот подсолн.	лесостепн.	1	—	—	—	—	—
Мука сенная	лесостепн.	1	384,0	6,4	25,7	21,0	30,80
Корма животного происхождения							
Молоко коровье	таежная	4	0,8	0,40	1,2	1,3	0,20
	подтаежн.	6	0,6	0,5	0,8	1,2	0,03
	лесостепн.	14	0,5	0,3	0,8	1,1	0,02
	степная	3	0,4	0,4	0,8	1,3	0,01
Прочие корма и минерально-витаминные добавки							
Мох сфагновый	подтаежн.	1	336,0	5,1	28,8	6,3	1,76
Хвоя ели		1	9,0	5,0	127,5	следы	50,40
Хвоя сосны		1	4,5	3,7	52,5	следы	60,90
Хвоя пихты		1	10,5	5,5	52,5	следы	72,30
Хвоя кедра		1	18,0	6,0	87,5	следы	65,50
Березовые ветки (зимние)		1	5,4	8,5	165,0	57,5	следы
Травянистые кочки (в среднем)		1	165,0	8,5	47,5	32,5	следы
Дернина		1	236,5	12,5	47,5	50,0	следы
Щетинник—петушье просо, мышей (зерно)		2	299,0	9,5	87,5	42,8	3,4
Сапропель		286	5000,0	17,0	70,0	165,0	нет
Мергель		14	1208,9	25,6	44,6	121,8	нет
Глина красная		2	236,0	10,5	56,2	32,5	нет
Древесная зола		1	29,0	115,0	1800,0	212,5	нет
Дрожжи жидкие		1	502,0	—	—	45,0	нет

Таблица 9

СОДЕРЖАНИЕ НЕЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ В 100 Г ПРОТЕИНА КОРМОВ¹

К о р м а	Лизин	Метионин	Цистин	Триптофан	Аргинин	Гистидин	Лейцин	Изолейцин	Фенилаланин	Треонин	Валин	Глицин
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Трава, сено, сенная мука												
Вика (цветение)	5,1	1,3	1,6	1,5	5,1	2,1	—	13,9	4,4	4,6	6,6	4,2
Клевер (бутонизация)	5,1	1,8	1,6	1,3	5,5	2,0	—	13,9	5,0	4,9	7,0	3,5
Люцерна (бутонизация)	6,2	1,1	1,2	1,2	5,4	2,3	—	12,8	4,9	4,3	6,3	4,3
Смесь злаков (ранняя фаза)	5,8	1,4	1,3	1,3	5,7	3,0	—	11,5	5,3	2,6	4,2	3,5
Сено злаковое (в среднем)	6,0	1,6	1,3	1,1	4,6	1,5	7,0	4,1	4,9	3,9	5,3	—
Сено клеверное	5,6	0,9	—	1,8	5,2	1,8	8,9	5,1	3,0	7,6	5,7	—
Сено люцерновое	6,1	1,1	2,0	1,5	5,1	1,7	7,1	5,8	4,5	4,9	4,8	4,6
Мука из листьев кукурузы	3,2	2,8	—	1,3	3,9	1,3	6,9	3,6	5,4	3,3	4,8	—
Мука люцерновая (в среднем)	6,0	1,0	2,0	1,6	4,8	1,7	7,3	4,8	4,6	4,1	4,6	—
Корни и клубни												
Картофель	5,1	1,7	—	1,2	4,9	1,7	7,6	3,9	4,8	4,6	5,2	—
Морковь	4,4	1,2	—	0,8	3,5	1,4	5,7	4,3	3,8	3,2	5,5	2,2
Свекла кормовая	3,4	0,5	—	0,9	1,8	1,4	3,4	3,2	1,5	1,4	3,1	—
Головка сахарной свеклы с ботвой	5,4	1,7	—	1,2	4,1	1,3	6,4	4,2	5,8	4,2	5,1	—
Тыква	5,7	1,2	—	1,3	3,6	1,5	5,2	3,7	3,3	2,7	4,8	—

Продолжение

Головка сахарной свеклы с ботвой . . .	5,4	1,7	—	1,2	4,1	1,3	3,4	3,2	1,5	1,4	3,1
Тыква	5,7	1,2	—	1,3	3,6	1,5	6,4	4,2	5,8	4,2	5,1
							5,2	3,7	3,3	2,7	1,8

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Зерно и семена												
Кукуруза (в среднем)	2,9	1,9	1,0	0,8	4,1	2,1	12,2	4,6	4,8	3,5	5,4	3,5
Овес (в среднем)	3,3	1,5	1,5	1,3	6,0	1,7	7,1	4,5	5,0	3,2	5,4	4,1
Просо (в среднем)	2,2	2,4	—	1,4	2,9	1,7	9,6	3,9	4,8	3,3	4,8	—
Рожь (в среднем)	3,6	1,4	1,5	0,9	4,7	2,2	6,0	4,2	4,7	3,1	5,0	—
Сорго (в среднем)	2,5	1,0	1,6	0,9	3,3	2,1	12,7	5,0	4,3	2,7	5,2	—
Ячмень (в среднем)	3,8	1,6	1,6	1,4	4,5	2,1	6,6	4,2	5,1	3,6	5,1	4,3
Бобы (в среднем)	6,2	0,9	—	0,9	5,9	2,7	8,8	5,5	4,6	3,9	5,5	—
Вика посевная	5,7	2,6	1,1	0,8	12,9	5,3	7,2	2,7	7,7	5,2	7,9	—
Горох (в среднем)	6,5	1,4	1,1	0,8	7,7	2,1	5,0	6,7	4,8	3,8	4,5	—
Люпин сладкий	4,5	1,0	1,1	0,9	9,5	3,6	7,5	3,7	4,9	4,1	4,4	—
Соевые бобы (в среднем)	6,6	1,4	1,6	1,3	7,7	2,3	7,9	5,3	5,1	3,8	5,4	5,1
Чечевица	6,0	0,8	0,8	0,6	7,9	2,3	5,9	5,1	4,4	3,4	5,5	—
Чина	7,4	0,6	—	0,9	12,5	2,1	9,3	8,7	4,2	4,7	7,0	—
Отходы промышленности												
Жмых конопляный	2,7	2,2	—	1,5	5,0	3,9	7,7	4,4	5,8	3,8	6,3	—
„ кукурузный	2,7	2,0	1,6	1,2	6,0	3,2	8,4	4,0	4,1	4,0	6,9	5,5
„ льняной	3,4	1,3	1,4	1,3	9,7	2,3	6,3	4,8	4,2	4,0	5,3	6,1
„ подсолнечниковый	3,3	2,4	1,5	1,4	8,5	2,1	6,2	4,5	4,8	3,6	5,1	—
„ соевый	6,3	1,3	1,4	1,4	7,6	2,4	7,7	5,5	4,9	3,9	5,3	—
Жмых хлопчатниковый	4,3	1,2	1,6	1,4	10,2	2,7	5,9	4,1	5,3	3,2	4,8	—
Барда зерновая сухая	3,0	1,6	—	0,8	3,5	2,5	8,0	5,3	5,2	3,3	5,7	—

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Барда кукурузная сухая	3,3	1,5	0,7	0,7	3,7	2,7	8,2	6,3	5,3	3,7	6,0	0,4
Овсяная кормовая мука	3,9	1,3	1,5	1,2	6,3	2,0	7,4	4,2	5,9	3,3	5,3	
Кукурузная мука	3,0	1,8	1,1	0,9	4,3	2,4	10,0	4,1	4,3	3,9	5,0	
Пивная дробина сухая	3,5	1,6	—	1,1	4,5	2,1	9,4	5,2	5,0	3,5	5,3	—
Пшеничная кормовая мука	2,9	1,0	—	1,2	4,4	2,2	6,4	3,0	3,2	2,7	4,4	—
Жом свекловичный сухой	7,6	0,1	—	1,1	3,6	2,2	6,0	4,1	3,0	4,1	4,8	—
Рыбная мука (в среднем)	8,9	2,9	1,9	1,0	6,7	2,3	8,0	5,5	4,5	4,5	5,8	7,2
Мясо-костная мука с 60% протеина . .	6,4	1,4	0,5	0,7	6,0	2,7	8,3	4,0	4,7	3,5	6,8	11,0
Мука из перьев, гидролизованная . .	1,6	0,6	2,8	0,7	7,3	0,4	8,5	6,4	5,5	4,7	8,9	—
Корма молочные												
Молоко коровы (в среднем)	7,9	2,4	0,9	1,4	3,6	2,8	9,9	6,6	5,0	4,9	6,8	—
Молозиво коровы (первые сутки) . . .	7,8	1,8	—	1,8	4,9	2,8	9,0	5,7	4,7	7,3	8,5	—
Молоко снятое (в среднем)	7,8	2,3	0,9	1,2	3,6	2,6	9,9	6,2	4,7	4,7	6,6	0,6
Сыворотка сухая	7,6	2,2	—	2,7	3,3	1,5	9,3	6,1	3,2	4,7	5,9	—
Казеин сухой	7,8	2,3	0,4	1,2	4,0	3,1	10,3	6,7	5,6	4,4	7,6	2,0

¹ Таблица заимствована из книги Н. А. Лукашина и В. А. Тацилина „Зоотехнический анализ кормов“ И зд. „Колос“, М., 1965.

1 Содержание
теплоты обРыбий жир
Сливочный ра
Масляный ра
Водно-жировМолозиво
Молоко ко
Сухие про
Солома
Силос на
Силос на
Сено, высуш

Содержание витамина D в кормах и препаратах, ИЕ

Таблица 10

Название корма или препарата	Содержание витамина
В 1 кг корма	
Зеленый корм	нет
Сено, высушенное в хорошую, солнечную погоду: злаковое и луговое	350—400—600 ¹
бобовое	750—1000
Сено, высушенное в плохую, пасмурную погоду	100—250
Силос из травы, заложенной в солнечную погоду	60—100
Силос из травы, заложенной в дождливую погоду	до 30
Солома яровая	50
Сухие дрожжи, облученные	10000—20000
Молоко коровье зимнее	3—17
Молоко коровье летнее	24—50
Молозиво	40—80
Рыбная мука	100
В 1 мл препарата	
Рыбий жир натуральный	50
Рыбий жир витаминизированный	200
Спиртовой раствор витамина D ₂	200000
Масляный раствор витамина D ₂ и D ₃	50000—200000
Водно-жировая эмульсия витамина D ₂ (в 1 г)	50000—100000
¹ Содержание витамина D в сене зависит от фазы вегетации и длительности облучения травы солнцем в процессе сушки.	

Казеин сухой 3,1 / 10,3 / 6,7 / 5,6 / 4,4 / 1,6 / 2,0
 и В. А. Тащилина - Зоотехнический институт
 Н. А. Лукашина из книги
 Таблица заимствована из книги
 И. эд. "Колос", М., 1965.

Т а б л и ц а 11

Содержание витамина Е в кормах (по Балдиссера-Нардио)

Корм	Общее количество токоферолов, мг/кг
Трава люцерны	44,0—152
Трава клевера молодого	36,0—100,0
Трава клевера зрелого	111,0—114,0
Трава ежи сборной молодой	94,0—109,0
Трава ежи сборной зрелой	9,0—26,0
Трава овсяницы, ржи, тимофеевки молодой	44,0—80,0
Трава овсяницы, ржи зрелой	4,0—40,0
Листья капусты кормовой	52,0—110,0
Стебли капусты кормовой	1,0—2,0
Сено люцерновое	33,0—77,0
Сено люцерновое искусственной сушки	192,0—258,0
Сено люцерновое солнечной сушки	26,0
Сено клеверное	67,0—70,0
Сено ежи сборной, ржи искусственной сушки	155,0—215,0
Сено тимофеевки, овсяницы искусственной сушки	89,0—143,0
Сено ежи сборной, тимофеевки	12,0—16,0
Жмых хлопчатниковый	32,0
Жмых льняной	215,0
Жмых арахисовый, подсолнечниковый	4,0—6,0
Жмых соевый, рапсовый	41,0—45,0
Шрот хлопчатниковый, соевый	6,0—12,0
Зерно ячменя	44,0—63,0
Зерно кукурузы	24—36,4
Зерно овса	15,0—50,0
Зерно пшеницы	35,0—125,0
Зерно ржи	21,0
Отруби пшеничные	30,0—147,0
Дрожжи пивные, сухие	0
Молоко цельное	1,2
Молоко снятое порошковое	0,37
Рыбная мука	21,0
Силос ежи сборной	81,0—84,0
Силос кукурузный	46,0
Морковь	4,5
Свекла кормовая	1,6—6,0
Свекла столовая, картофель	0,6—0,7
Свекла сахарная, ботва	92,0

Примечание. Необходимо указать, что по данным Балдиссера-Нардио в траве, сене, рыбной муке, подсолнечниковом жмыхе, моркови количество α -токоферола составляет 95—100%, в хлопчатниковом жмыхе и шроте, зерне, пшеницы—только 50—58%. В пшеничных отрубях, рапсовом жмыхе на долю α -токоферола приходится 22—27%, в зернах ячменя, кукурузы—10—15%.

Таблица 12

Содержание рибофлавина и никотиновой кислоты в кормах, мг/кг

Корм	Рибофлавин	Никотиновая кислота
Зерно ячменя	1,2	30,0—67,0
Зерно овса	1,0—1,2	8,0—14,0
Зерно пшеницы	1,3—1,5	42,0—50,0
Зерно ржи	1,2—1,6	8,4—18,0
Зерно кукурузы	0,6—1,3	14,0—20,6
Зерно проса	0,8	28,0—29,0
Зерно гороха	1,5—1,6	18,0—30,0
Зерно бобов	2,0—3,0	11,0—28,0
Отруби пшеничные	2,8—3,0	200,0—308,0
Отруби ржаные	2,2—2,6	17,0—100,0
Жмых льняной	4,4—6,1	40,0—48,0
Жмых хлопчатниковый	5,0—9,0	32,0—45,0
Жмых соевый	3,0—4,1	37,0—39,0
Жмых подсолнечниковый	3,0	180,0
Мясо-костная мука	5,0—5,7	45,0—67,0
Рыбная мука	3,0—17,0	60,0—90,0
Рыба свежая	1,0	20,0
Сухое снятое молоко	20,0—20,5	11,0—16,0
Молоко снятое свежее	1,6	1,0
Молоко цельное свежее	0,6—3,4	0,8—5,1
Дрожжи кормовые сухие	20,0	20,0
Дрожжи пивные сухие	35,0—45,0	475,0—500,0
Сенная мука клеверная	6,8—19,0	28,0—41,5
Сенная мука люцерновая	7,3—14,8	19,0—39,6
Сенная мука из разнотравья	7,0	12,0
Хвойная мука и хвоя свежая (ель)	3,0—5,0	—
Трава клевера	6,8	28,2
Трава злаково-бобовая	4,0	5,0
Морковь красная	0,2—0,7	7,0—14,7
Картофель	0,3—2,2	11,0—16,5
Свекла кормовая	0,3	1,8
Свекла полусахарная	0,8	3,3
Свекла сахарная	0,4	2,3
Брюква	0,3	12,5
Турнепс	0,3—0,4	6,9
Силос из подсолнечника, кукурузы	2,0	5,0—14,0

Таблица 13

Содержание аскорбиновой кислоты в кормах, мг/кг

Корма	Аскорби- новая кислота	Корма	Аскорби- новая кислота
Люцерна зеленая	900—2250	Тыква	25
Клевер зеленый	360—1200	Турнепс	30
Тимофеевка	400	Хвоя сосны и ели зимой	2200
Капуста кормовая	1500	Молоко цельное	7—26
Крапива зеленая	1000—2070	Зерно пшеницы	38,7
Кукуруза зеленая	14	Зерно ржи	28
Лук зеленый	24—600	Зерно овса	32
Брюква	275—1200	Зерно кукурузы	22
Картофель	100—170	Зерно гороха	45
Кабачки	100—150	Зерно чечевицы	25
Морковь	50—380	Обрушенное просо	21
Свекла	80		

Месяц

Январь

Апрель

Июль

Таблица 13
 max, мг/кг
 Асфальт
 25
 30
 2200
 7-26
 38,7
 28
 32
 22
 45
 25
 21

Таблица 14
 Химический состав молока коров хозяйств различных зон
 Омской области в различные периоды года

Месяц	Зоны	Зола, %	Содержится в 1 литре								
			граммов						миллиграммов		
			каль- ций	фос- фор	магний	натрий	калий	про- теин	желе- зо	марга- нец	цинк
Январь	лесостепная	0,81	1,85	0,90	0,29	0,42	0,98	33,50	31,0	0,11	0,066
	степная	0,78	2,24	0,97	0,24	0,52	0,95	30,63	35,0	0,02	0,080
	подтаежная	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Апрель	лесостепная	0,62	1,74	1,10	0,27	0,37	0,59	36,0	46,2	—	0,090
	степная	0,76	2,35	1,20	0,53	0,40	0,81	35,7	43,0	0,14	0,085
Июль	лесостепная	0,76	1,20	1,29	0,22	0,29	0,49	37,2	17,0	—	—
	степная	0,85	1,30	1,10	0,30	0,27	0,31	37,9	20,0	—	—

Таблица 15

Показатели качественной оценки силоса урожая 1967 г., по данным исследований ветеринарных лабораторий
Урала, Сибири и Дальнего Востока

Показатели оценки	Области, края, республики																
	Сахалинская обл.	Амурская обл.	Магаданская обл.	Читинская обл.	Бурятская АССР	Иркутская обл.	Краснояр- ский край	Алтайский край	Томская обл.	Кемеровская обл.	Омская обл.	Тюменская обл.	Курганская обл.	Челябинская обл.	Свердловская обл.	Пермская обл.	Оренбургская обл.
В зимне-стойловый период 1967/68 г. приходилось на условную голову, ц:																	
сена	5,2	4,8	15,0	9,3	—	—	6,5	4,6	12,3	8,8	5,5	8,5	8,3	9,0	8,2	9,0	3,3
соломы	—	18	нет	—	—	—	12,3	5,4	7,5	13,2	11,1	10,5	14,9	12,2	11,7	13,4	12,1
силоса	37,6	38	43,5	10,2	—	—	21,2	43,0	33,0	36,5	29,2	30,5	44,9	56,1	38,7	25,6	20,0
корнеплодов	6,1	2,7	нет	—	—	—	0,7	1,0	—	8,4	1,4	—	0,1	0,8	—	1,4	0,8
концкормов	1,3	—	1,5	2,0	—	—	1,9	2,3	6,0	8,4	2,3	3,8	3,8	4,2	6,9	4,1	3,0
Исследовано всего проб си- лоса	86	149	27	38	267	64	1116	1795	690	825	867	—	175	85	228	143	53
Силос хороший, %	14,0	30,0	33,3	62,0	18,0	26,0	15,7	22,0	28,5	9,5	30,6	16,1	16,0	7,1	20,0	34,8	13,3
„ удовлетворительный, %	38,0	40,0	22,2	21,0	28,0	35,1	31,1	47,0	24,5	22,0	31,7	51,6	46,0	19,0	10,0	15,9	67,9
„ плохого качества, %	48,0	30,0	44,5	17,0	54,0	37,0	52,2	31,0	47,5	68,5	37,7	32,3	38,0	73,8	40,0	49,3	18,8
По содержанию каротина, %																	
15 мг/кг и больше	13,0	13,0	63,0	60,0	23,1	20,9	24,8	10,0	40,0	22,7	5,5	5,5	25,0	11,8	7,8	23,8	9,4
от 10 до 15 мг/кг	31,0	16,0	11,2	5,8	18,5	12,6	16,7	11,5	23,0	12,3	2,1	19,5	21,0	8,2	12,2	9,1	11,3

Продолжение

Области, края, республики

Показатели оценки	Области, края, республики																
	Сахалинская обл.	Амурская обл.	Магаданская обл.	Читинская обл.	Бурятская АССР	Иркутская обл.	Красноярский край	Алтайский край	Томская обл.	Кемеровская обл.	Омская обл.	Тюменская обл.	Курганская обл.	Челябинская обл.	Свердловская обл.	Пермская обл.	Оренбургская обл.
от 5 до 10 мг/кг	2,6	37,0	3,5	15,8	13,8	17,0	24,3	36,0	14,5	18,5	12,1	60,4	25,0	16,5	32,4	16,1	20,8
до 5 мг/кг	1,1	18,0	22,3	—	20,0	24,0	21,9	36,5	12,0	27,9	32,2	14,6	—	35,3	42,0	42,7	41,5
Отсутствовал каротин, %	19,0	16,0	—	18,4	24,6	25,5	22,3	6,0	10,5	18,6	48,1	—	29,0	28,2	5,6	8,4	17,0
По кислотному составу, %:																	
преобладала молочная кислота при отсутствии масляной	3,0	30,0	22,2	84,2	8,6	9,0	13,7	22,3	28,5	5,8	30,6	15,7	20	нет	11,4	6,6	41,3
преобладала молочная кислота при наличии масляной	57,0	1,0	26,0	5,3	58,6	18,0	25,2	14,0	13,5	78,5	39,5	48,1	41	10,0	20,6	42,7	12,2
преобладала уксусная кислота при отсутствии масляной	4,0	40,0	7,4	6,3	5,1	17,0	12,0	32,5	42,0	2,9	27,8	15,3	29	32,0	16,2	—	23,2
преобладала уксусная кислота при наличии масляной	36,0	15,0	22,2	4,2	28,7	56,0	49,1	31,2	17,0	12,8	2,1	20,9	10,0	28,0	51,8	50,7	23,3
наличие свободной масляной кислоты свыше 5%	23,3	0,0	22,2	0,0	28,7	4,0	3,0	6,0	10,0	нет	37,7	27,9	19	30,9	44	29,6	20,6

Таблица 16

Биохимические показатели сыворотки крови животных и птиц, убитых в сентябре и октябре 1966 г. на Омском и Тарском мясокомбинатах, по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ

Вид и группы животных и птиц	Колич. проб	Содержится (белок в %; другие компоненты в мг%)											
		белок общий	альбумины	глобулины	резерв. щелоч.	кальций	фосфор	калий	натрий	железо	медь	цинк	каротин
Коровы	6	7,6	3,96	3,64	358,0	11,3	6,05	27,0	299,0	0,75	0,17	0,23	0,827
Телки старше года	6	6,72	3,82	2,95	402,0	10,4	4,50	33,5	310,0	1,05	0,25	0,13	0,675
Бычки-кастр. с откорма	6	7,05	5,06	2,0	365,0	10,6	6,35	33,0	271,0	0,96	0,15	0,18	0,918
Телята	7	6,55	4,21	2,35	405,0	10,1	6,70	26,0	283,0	0,90	0,19	0,17	0,380
Лошади рабочие	4	7,48	3,80	3,68	330,0	12,9	6,0	30,0	279,0	1,17	0,27	0,30	не обн.
Жеребята	4	6,56	3,95	2,17	380,0	12,7	5,05	27,0	276,0	0,87	0,25	0,16	"
Свиноматки	6	7,26	3,64	3,62	377,0	11,1	7,70	28,5	312,5	1,05	0,37	0,13	"
Свиньи откорм.	5	8,03	4,17	3,36	345,0	10,6	9,95	24,5	293,0	0,92	0,23	0,18	"
Подсвинки	5	7,53	2,92	4,61	358,0	10,4	9,90	30,0	305,5	0,90	0,30	0,12	"
Поросята	7	6,14	3,62	2,48	360,0	10,3	9,72	28,5	314,0	0,80	0,21	0,25	"
Овцематки	6	6,60	3,83	2,77	390,0	11,2	5,50	21,5	311,0	1,58	0,20	0,17	"
Бараны-производители	3	7,0	3,52	3,48	320,0	11,1	6,96	18,0	305,0	1,12	0,15	0,13	"
Валухи	3	5,29	1,51	3,76	326,0	10,1	4,50	29,5	326,0	0,95	0,21	0,16	"
Ярки	7	5,87	3,63	2,26	376,0	10,6	5,48	25,0	335,0	1,07	0,42	0,16	"
Ягнята	5	6,15	3,36	2,79	335,0	10,0	3,60	27,0	295,0	1,36	0,26	0,23	"
Куры	8	4,82	2,22	2,58	418,0	15,2	5,61	31,0	312,0	0,69	0,21	0,46	"
Индейки	4	4,23	3,52	0,71	320,0	12,7	8,40	41,0	315,0	1,03	0,12	не иссл.	"
Утки	5	4,17	0,17	4,1	430,0	11,1	8,0	43,5	332,0	1,12	0,17	0,32	"
Гуси	6	4,0	2,10	1,9	318,0	12,5	8,10	41,5	317,0	0,61	—	0,17	"

Примечание. Марганца в сыворотке крови животных и птиц содержалось не более 0,05 мг%.

Таблица 17

Биохимические показатели органов сельскохозяйственных животных, птицы и пушных зверей (в среднем), по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ

Колич. проб	Азот	Кальций	Фосфор	Магний	Калий	Натрий	Железо	Медь	Цинк	Марганец	Каротин	Витамины
-------------	------	---------	--------	--------	-------	--------	--------	------	------	----------	---------	----------

Примечание. Марганец в сыворотке крови животных и птиц содержится по общему методу

Таблица 17

Биохимические показатели органов сельскохозяйственных животных, птицы и пушных зверей
(в среднем), по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ

Вид и группы животных	Количество проб	% влаги	Азот	Кальций	Фосфор	Магний	Калий	Натрий	Железо	Медь	Цинк	Марганец	Каротин ¹	Витамин А		
			граммов в килограмме сухого вещества							миллиграммов в килограмме сухого вещества						
			4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
Крупный рогатый скот																
ПЕЧЕНЬ																
Коровы	12	77,3	90,5	4,0	8,0	1,1	9,1	2,8	127,0	52,4	260,5	10,2	10,1	5,2		
Быки-производители	4	79,5	110,0	1,1	9,5	1,7	5,8	2,8	120,0	86,0	254,0	8,2	8,7	6,5		
Телки старше года	11	72,4	86,0	6,4	9,4	1,5	8,4	3,0	154,4	46,0	204,0	25,0	10,0	7,9		
Быки откормочн.	12	71,0	74,5	3,1	8,4	1,0	8,3	2,3	156,0	51,0	207,0	23,7	10,5	3,8		
Телята от 4—6 месяцев	14	73,7	90,0	1,3	9,3	1,5	5,8	3,1	87,8	60,0	179,0	17,5	2,3	3,2		
Свиньи																
Свиноматки	12	72,0	90,0	1,5	7,7	1,2	8,9	3,0	151,8	71,0	209,0	25,0	нет	6,3		
Хряки-производители	5	68,5	83,5	1,80	6,0	1,3	8,3	2,1	105,7	54,5	276,0	18,2	"	6,7		
Подсвинки	10	71,0	101,0	3,0	7,4	1,8	8,7	3,3	142,5	76,5	225,0	17,8	"	3,7		
Свиньи откормочные	5	70,2	100,0	4,3	6,6	1,6	7,7	2,3	205,7	45,0	227,5	35,0	"	0,3		
Поросята-отъемыши	13	70,1	100,0	2,3	7,8	1,5	9,2	2,8	149,0	74,0	300,0	21,2	"	5,5		
Овцы																
Овцематки	9	69,6	60,0	4,5	8,0	1,4	6,7	2,5	149,0	40,5	254,0	18,2	нет	10,12		
Ярки	3	73,0	76,0	2,3	7,1	2,0	8,0	3,0	195,3	50,0	102,0	50,0	"	10,3		

¹ Каротин и витамин А берутся при натуральной влажности.

Продолжение

Продолжение														
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Бараны-производители	6	68,7	75,0	2,3	7,5	1,3	6,7	2,6	153,0	47,5	202,5	24,2	нет	3,27
Валухи	11	70,3	65,0	4,7	8,4	1,0	7,7	2,1	110,0	60,0	215,0	27,5	"	10,14
Молодняк (ягнята)	9	69,0	90,0	3,6	7,5	1,3	7,5	2,5	100,0	71,5	157,5	11,5	"	10,68
Лошади														
Лошади рабочие	4	70,8	70,0	1,2	6,0	1,0	7,3	1,7	122		229,5	12,5	—	2,6
Лошади (молодняк)	4	70,7	82	1,9	6,5	0,8	9,5	1,8	175,5		310,0	8,8	—	2,2
Птица														
Куры взрослые	13	72,5	76,0	2,0	8,5	1,3	6,7	2,8	198,5	26,0	160,0	27,2	2,3	12,0
Утки	9	70,3	83,0	1,8	7,0	0,8	6,7	2,9	204,0	67,0	142,0	20,0	1,0	10,9
Индейки	6	68,6	85,0	1,4	6,5	1,0	5,7	3,0	187,0	70,5	170,0	18,5	1,46	7,3
Гуси	8	70,9	81,0	2,1	7,3	1,0	8,7	1,9	148,2	44,5	235,0	22,5	2,59	17,1
Пушные звери														
Лисы	3		135,0	0,8	8,0	0,25			57,0	32,0	93,7	187,5	—	—
Норки	3		86,0	1,5	5,5	0,25			215,0	52,0	138,7	—	—	—
Крупный рогатый скот														
Коровы	12	80,3	101,5	2,3	7,3	1,2	9,1	5,4	239,0	20,5	195,0	15,5	—	—
Быки-производители	4	80,4	115,0	2,0	9,0	1,0	7,6	6,2	202,0	20,0	130,0	11,5	—	—
Телки старше года	11	81,3	106,0	2,5	9,0	1,3	10,0	5,5	156,0	36,0	170,2	13,5	—	—
Быки откорм.	12	79,0	70,0	2,5	8,0	1,3	9,7	4,5	189,0	33,0	157,5	22,9	—	—
Телята от 4—6 месяцев	16	80,0	45,0	1,8	9,0	1,5	10,0	4,8	220,0	28,5	172,5	12,6	—	—

Продолжение

[illegible]

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Свиньи														
Свиноматки	12	79,0	100,0	4,8	8,7	1,5	11,0	4,3	157,0	29,5	157,5	13,7	—	—
Хряки-производители	5	82,0	97,0	9,2	5,4	1,7	6,5	4,2	240,0	22,0	171,0	15,0	—	—
Подсвинки	10	79,1	80,0	5,8	7,0	1,3	9,0	3,0	140,0	34,0	153,5	14,3	—	—
Свиньи откормочные	5	80,5	92,5	2,8	6,3	1,3	10,4	4,0	144,3	19,5	165,0	31,0	—	—
Поросята-отъемыши	13	79,3	85,6	2,9	8,6	1,2	10,0	4,5	109,5	29,5	193,0	19,2	—	—
Овцы														
Овцематки	9	80,0	77,0	3,5	6,9	0,9	10,0	5,2	179,0	34,5	200,0	16,0	—	—
Ярки	3	80,9	91,4	4,0	11,0	2,0	9,5	5,3	102,0	35,0	162,5	35,0	—	—
Бараны-производители	6	79,2	75,0	1,4	7,5	1,3	8,7	5,4	100,5	37,0	157,5	15,0	—	—
Валухи	11	78,5	89,0	1,9	8,5	1,4	9,7	4,8	156,0	64,0	200,0	10,0	—	—
Молодняк (ягнята)	9	80,0	75,0	1,5	8,5	1,0	6,7	5,0	129,0	30,0	156,0	13,8	—	—
Лошади														
Лошади рабочие	4	81	102	2,3	7,6	1,3	9,2	4,3	142	46	242,5	27,5	—	—
Лошади молодняк	4	81	94	2,7	8,0	1,2	10,2	3,5	97	31	240	25,5	—	—
Птицы														
Гуси	2	75,5	115,0	1,3	8,5	1,1	6,7	3,8	84,0	29,0	105,0	30,0	—	—
Пушные звери														
Лисы	3		117,0	1,4	5,7	0,25			36,0	19,0	107,0	100,0	—	—
Норки	3		83,0	1,7	7,7	0,30			39,0	111,0	81,2	107,5	—	—

Продолжение

[illegible]

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Птица														
Куры взрослые	7	79,8	49,0	1,1	9,0	0,65	10,0	4,4						
Утки	3	76,8	51,0	0,8	10,2	0,62	13,0	5,0						
Индейки	2	75,6	65,0	0,7	10,0	0,65	10,0	4,8						
Пушные звери														
Лисы	3	74,2	112	0,8	11,5	1,75			447,0	5,0	146,2	52,5	—	—
Норки	3	71,7	127	1,6	10,2	0,25			202,0	26,0	140,0	16,2	—	—
Крупный рогатый скот														
СКЕЛЕТНЫЕ МЫШЦЫ														
Коровы	12	75,5	88,5	2,5	5,6	1,3	11,5	1,7	164,0	17,2	293,8	16,4	—	—
Быки-производители	4	73,7	75,0	1,8	5,9	1,2	10,0	1,5	96,0	10,5	374,0	21,5	—	—
Телки старше года	11	77,0	107,0	3,6	5,0	1,3	9,0	2,9	100,0	16,0	203,7	13,0	—	—
Быки откормочн.	12	78,0	98,0	3,7	5,8	1,3	11,0	2,7	160,7	21,7	192,5	8,5	—	—
Телята от 4—6 месяцев	16	77,9	110,0	2,9	6,7	1,5	11,0	1,9	123,0	17,0	252,5	13,0	—	—
Свиньи														
Свиноматки	12	71,0	85,0	1,0	7,0	1,3	9,4	3,9	120,2	16,2	206,0	13,2	—	—
Хряки-производители	5	67,0	100,0	0,8	4,4	1,3	5,3	2,3	61,5	13,5	183,0	13,8	—	—
Подсвинки	10	75,0	91,0	1,9	7,3	1,5	8,3	2,7	60,7	12,2	150,0	14,0	—	—
Свиньи откормочные	5	67,0	98,5	1,0	4,7	1,8	6,7	2,0	84,5	13,5	173,7	9,4	—	—
Поросята-отъемыши	13	75,0	103,5	2,1	6,3	1,2	11,8	1,8	53,3	15,2	120,0	10,5	—	—
Овцы														
Овцематки	9	75,6	96,0	1,1	6,0	1,5	8,0	1,8	125,0	27,5	177,5	11,0	—	—

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Ярки	3	73,2	87,5	0,7	5,4	1,8	11,2	1,7	118,0	17,0	134,0	14,5	—	—
Бараны-производители	6	76,3	72,0	0,8	5,4	1,6	11,0	2,1	78,0	17,5	186,0	18,5	—	—
Валухи	11	75,0	86,0	2,0	7,0	1,8	8,0	2,0	140,0	43,5	245,0	10,0	—	—
Молодняк	9	76,6	85,0	1,7	5,25	1,85	8,75	3,2	93,7	15,5	235,0	13,5	—	—
Лошади														
Лошади рабочие	4	75,4	112,5	2,2	5,6	0,97	13,0	1,4	109,5	19,2	127,7	13,7	—	—
Лошади молодняк	4	76,5	103,5	2,2	5,2	1,1	10,8	2,2	90,0	14,7	206,2	28,7	—	—
Птица														
Куры взрослые	13	74,0	96,0	1,6	5,2	2,10	9,7	2,3	69,7	14,0	92,0	9,5	—	—
Утки	6	72,9	103,5	1,4	4,9	1,2	13,5	1,5	152,7	17,7	82,5	13,7	—	—
Гуси	8	73,2	100,0	1,2	6,5	1,4	9,5	2,0	132,0	28,5	157,5	11,5	—	—
Индейки	4	73,1	108,0	1,5	4,2	1,0	11,0	1,8	62,5	12,0	57,5	5,0	—	—
Пушные звери														
Лисы	3	68,1	112,0	1,4	5,75	0,25								
Норки	3	71,2	115,0	1,0	6,25	0,45			34,5	23,0	167,5	66,2	—	—
									33,5	18,0	215,0	20,0	—	—
Крупный рогатый скот														
МЫШЦЫ СЕРДЦА														
Коровы	12	76,2	83,0	1,9	6,01	1,23	11,37	2,4	140,5	13,25	147,2	22,5	—	—
Быки откорм.	12	78,5	91,5		6,87	1,48	12,5	2,57	136,2	13,4	165,0	44,7	—	—
Телки ст. года	14	79,05	103,5	0,95	6,12	1,14	10,37	2,4	142,0	15,75	127,5		—	—
Телята	14	75,05	81,0	2,25	5,87	1,41	9,87	2,42	144,5	18,5	113,7	16,2	—	—

Продолжение

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Свиньи														
Свиноматки	12	82,65	103,0	1,45	7,31	1,77	12,0	2,6	110,5	19,5	142,2	25,0	—	—
Подсвинки	10	78,65	76,0	2,65	6,18	1,62	12,0	2,75	126	20,0	133,7	16,7	—	—
Поросята-отъем.	13	75,58	89,5	0,6	6,5	1,21	11,5	2,62	156	13,75	160,5	16,9	—	—
Свиньи откормочные	5	76,9	99,0	1,4	6,06	1,28	9,12	2,62	161,0	14,5		23,7	—	—
Овцы														
Овцематки	9	77,45	88,0	1,7	5,56	1,31	7,27	3,45	142,5	20,5	153,5	25,0	—	—
Ярки	3	78,7	60,0	3,5	5,5	1,55	11,5	2,7	131,0	15,5	147,5	32,5	—	—
Валухи	11	71,6	139,0	3,16	5,75	1,05	6,75	1,15	115	15,5	285	18,8	—	—
Ягнята	9	76,75	77,5	0,65	6,0	1,56	8,75	2,5	118,0	17,75	127,7	12,5	—	—
Бараны-производители	6	77,1	93,0	1,5	5,75	1,37	9,5	1,65	83	18,5	135	35,0	—	—
Лошади														
Лошади рабочие	4	78,5	99,0	4,3	4,65	1,45	5,8	1,85	125	25,0	125	23,0	—	—
Лошади молодняк	4	77,7	94,0	1,2	5,55	0,82	8,75	2,9	237	26,0	172,5	12,5	—	—
Крупный рогатый скот														
КОСТНАЯ ТКАНЬ (плечевая кость)														
Коровы	12	—	—	393,5	168,2	17,3	0,3	10,7	3,5	25,5	130,0	5,5	—	—
Быки-производители	4	—	—	378,7	160,0	15,2	0,1	12,5	1,2	9,5	135,0	6,0	—	—
Телки старше года	11	—	—	380,9	156,0	16,7	0,1	12,5	5,5	30,8	117,0	3,8	—	—
Быки откормочные	12	—	—	389,0	151,2	19,6	0,2	10,1	4,0	27,5	165,5	5,0	—	—
Телята от 4—6 мес.	16	—	—	360,5	147,5	24,1	0,3	12,0	4,1	30,0	245,0	5,0	—	—

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Свиньи														
Свиноматки	12	—	—	380,5	172,5	17,2	0,12	11,0	3,3	18,0	205,0	13,5	—	—
Хряки-производители	5	—	—	383,8	166,2	13,0	0,11	17,0	4,7	12,0	115,0	18,4	—	—
Подсвинки	10	—	—	370,1	150,5	16,5	1,10	11,1	2,7	24,0	153,0	10,0	—	—
Свиньи откормочные	5	—	—	362,0	145,0	22,0	1,0	5,6	13,0	21,0	266,0	5,0	—	—
Поросята-отъемыши	13	—	—	378,4	168,2	18,4	1,3	11,3	5,0	14,4	214,5	11,0	—	—
Овцы														
Овцематки	9	—	—	377,2	170,0	17,5	1,0	10,0	4,5	20,5	170,0	6,5	—	—
Ярки	6	—	—	391,2	146,2	22,3	0,3	9,5	7,0	5,5	155,0	5,3	—	—
Бараны-производители	11	—	—	378,3	150,0	17,2	0,2	10,5	5,5	20,0	238,5	10,0	—	—
Валухи	9	—	—	380,7	149,5	17,5	0,5	8,9	9,0	20,5	205,0	5,5	—	—
Молодняк (ягнята)	9	—	—	380,4	160,0	17,5	1,5	10,5	5,0	16,5	150,5	11,5	—	—
Лошади														
Лошади рабочие	4	—	—	369,5	155,0	22,2	0,4	4,6	6,0	28,0	190,0	7,65	—	—
Лошади молодняк	4	—	—	386,7	143,7	21,0	0,9	4,8	7,0	27,0	227,0	2,2	—	—
Птица														
Куры взрослые	13	—	—	376,5	155,0	16,9	0,5	8,4	5,0	20,0	204,0	3,9	—	—
Утки	6	—	—	392,0	170,6	21,5	0,2	5,0	6,5	24,0	347,5	3,9	—	—
Гуси	8	—	—	385,9	150,7	17,0	0,1	4,5	6,0	25,5	297,5	4,0	—	—
Индейки	4	—	—	378,2	187,5	25,0	0,1	4,6	6,0	14,0	300,0	4,8	—	—
Пушные звери														
Соболь	2	—	—	397,0	155,0	23,5	—	—	1,0	5,5	68,0	—	—	—

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Крупный рогатый скот														
СОДЕРЖИМОЕ ЖЕЛУДКОВ														

СОДЕРЖИМОЕ ЖЕЛУДКОВ

Крупный рогатый скот

11,5 | 2,9 | 20,0 | 111,7 | 11,0 | 8,0 | 12,3 | — | —

Продолжение

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Крупный рогатый скот		СОДЕРЖИМОЕ ЖЕЛУДКОВ												
Коровы	6	83,4	10,1	1,2	8,2	1,5	2,9	20,0	111,7	11,0	8,0	12,3	—	—
Быки-производители	4	87,0	15,7	1,1	6,56	1,3	2,5	7,25	74,0	13,5	12,5	6,0	—	—
Телки старше года	5	88,8	9,5	3,6	10,0	1,2	2,8	5,4	92,0	5,2	7,2	5,0	—	—
Быки-откормочные	6	90,4	10,1	2,3	12,5	0,9	2,1	20,8	130,0	10,2	20,5	22,0	—	—
Телята от 4—6 мес.	9	91,0	20,1	4,6	6,7	0,9	0,5	7,9	5,5	8,5	20,0	5,0	—	—
Свиньи														
Свиноматки	6	82,1	16,7	6,3	1,5	1,1	3,9	2,0	192,2	15,7	28,5	6,9	—	—
Хряки-производители	5	75,6	17,0	3,6	1,35	1,4	3,4	1,6	78,5	16,0	70,0	2,0	—	—
Подсвинки	6	94,0	22,7	3,7	4,5	1,0	2,9	1,9	210,5	9,3	20,0	3,8	—	—
Поросята-отъемыши	6	74,2	18,0	3,7	2,4	2,0	2,4	2,1	240,0	15,0	23,0	2,9	—	—
Овцы														
Овцематки	3	95,0	16,4	6,2	3,0	1,65	17,5	36,5	235,0	11,4	17,5	5,7	—	—
Бараны-производители	3	94,0	14,4	11,0	2,5	2,6	10,0	31,5	69,5	11,5	25,0	3,2	—	—
Валухи	5	97,0	16,6	8,7	3,0	1,57	22,1	43,75	118,0	40,0	75,0	2,5	—	—
Птицы														
Куры взрослые	7	51,4	8,3	1,5	2,5	2,6	1,4	1,1	882,0	33,2	36,8	7,0	—	—
Утки	3	18,9	3,8	1,1	1,87	4,25	0,1	0,2	1410,0	18,7	32,5	5,0	—	—
Индейки	2	22,3	7,0	1,8	1,25	1,12	0,3	0,2	1434,0	28,5	17,5	12,5	—	—
Гуси	2	30,8	13,0	2,0	3,17	0,90	1,1	1,7	367,0	22,5	32,5	5,0	—	—

Таблица 18

Биохимические показатели скорлупы, белка и желтка куриных яиц
(по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ)

Показатели	Скорлупа	Белок	Желток
Отношение желтка, белка, скорлупы к весу яйца, %	12,9	56,2	30,9
Влажность, %	$22,2 \pm 0,97$	$86,6 \pm 0,48$	$52,1 \pm 1,05$
Средний вес, г	$7,36 \pm 0,17$	$32,3 \pm 0,52$	$17,8 \pm 0,32$
Протеин, г/кг	—	$811,0 \pm 22,70$	$212,5 \pm 5,95$
Кальций, г/кг	$339,6 \pm 3,78$	нет	нет
Фосфор, г/кг	$1,35 \pm 0,10$	$1,07 \pm 0,04$	$1,76 \pm 0,15$
Магний, г/кг	$11,9 \pm 0,37$	$2,41 \pm 0,13$	$1,98 \pm 0,11$
Калий, г/кг	$0,34 \pm 0,08$	$3,78 \pm 0,33$	$0,792 \pm 0,11$
Натрий, г/кг	$3,18 \pm 0,17$	$5,8 \pm 0,14$	$1,29 \pm 0,10$
Железо, мг/кг	$28,0 \pm 3,59$	$32,3 \pm 3,46$	$41,6 \pm 3,05$
Цинк, мг/кг	$14,4 \pm 2,04$	$11,12 \pm 0,52$	$50,3 \pm 1,95$
Медь, мг/кг	$19,2 \pm 1,45$	$11,6 \pm 1,48$	$16,9 \pm 1,50$
Марганец, мг/кг	$41,6 \pm 0,72$	$22,4 \pm 3,04$	$46,5 \pm 1,96$
Каротин, мг/кг	—	—	$8,74 \pm 1,31$
Витамин А, мг/кг	—	—	$2,42 \pm 1$

Таблица 19

Биохимические показатели скорлупы, белка и желтка утиных и гусиных яиц
(по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ)

мг в 1 кг сухого вещества

Таблица 19

Биохимические показатели скорлупы, белка и желтка утиных и гусиных яиц
(по данным исследования лаборатории зоогигиены СибНИВИ)

Вес составных частей яйца, г	Соотно- шение, %	Влаж- ность, %	г в 1 кг сухого вещества						мг в 1 кг сухого вещества					
			протеин	кальций	фосфор	магний	натрий	калий	железо	медь	цинк	марганец	каротин	витамин А
Средний вес яйца, г	73,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Белок	49,8	85,7	918,0	—	1,0	2,57	6,4	3,5	75,0	19,5	49,0	40,0	—	—
Желток	35,3	47,5	116,9	—	2,10	1,77	1,5	1,0	65,0	23,0	15,0	45,0	18,7	10,87
Скорлупа	14,9	33,5	—	351,0	1,7	8,20	3,15	1,0	23,0	41,5	25,0	45,0	—	—
Средний вес яйца, г	130,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Белок	51,0	69,3	850,0	—	1,0	2,62	6,40	2,5	14,0	8,0	11,0	—	—	—
Желток	36,1	45,7	243,7	—	4,95	1,40	0,73	1,9	204,0	9,5	37,0	—	2,69	11,2
Скорлупа	12,9	24,0	—	355,6	1,55	5,25	2,60	1,0	25,0	16,4	27,5	5,2	—	—

Таблица 20

Примерные суточные нормы макро- и микроэлементов для сельскохозяйственных животных
из расчета на 100 кг веса, рекомендуемые СибНИВИ

Виды и группы животных	Кальций, г	Фосфор, г	Магний, г	Калий, г	Натрий, г	Железо, мг	Медь, мг	Марганец, мг	Кобальт, мг	Цинк, мг	Каротин, мг
Коровы молочные:											
на 100 кг веса	15—18	10—12	6—8	8—10	3—5	0,5—0,8	40—50	70—80	2,5—5 ¹	70—80	70—80
на 1 л молока	2—3	2—3	0,5—0,6	2—3	1—1,5	0,05	0,2	0,2	—	0,1	10—12
Коровы сухостойн. и нетели	20—25	12—18	7—10	10—12	5—8	0,8—1	50—60	90—100	3—5	80—100	90—120
Быки-производители	15—20	10—15	7—9	8—10	5—6	0,6—0,8	40—50	80—90	2,5—4	80—90	90—100
Молодняк к. р. с. старше 6 мес.	12—15	8—10	6—7	6—7	4—5	0,5—0,6	30—40	70—80	3—5	70—80	80—90
Телята	18—20	10—12	7—8	5—6	4—5	0,6—0,7	40—50	80—90	2,5—4	80—90	80—100
Свиноматки с поросятами	50—60	25—30	7—8	10—15	4—5	0,8—1	30—40	100—150	—	70—90	70—80
Свиноматки супоросные	50—60	25—30	7—8	10—15	4—5	0,8—1	30—40	100—150	—	70—90	70—90
Хряки	40—50	20—25	6—8	8—10	4—5	0,6—0,7	20—30	70—80	—	80—90	70—80
Ремонтные свиноматки	40—50	20—25	5—6	7—8	3—4	0,5—0,6	15—20	50—60	—	40—50	30—40
Откормочные свиньи	40—50	15—20	5—6	7—8	3—4	0,3—0,5	15—20	40—50	—	40—50	20—30
Поросята-отъемыши	40—50	20—25	5—6	7—8	4—5	0,6—0,7	20—30	50—60	—	40—50	30—40
Овцематки суягные и с ягнятами	20—25	15—18	8—10	10—12	5—6	0,8—1	50—60	80—90	2—4	70—80	80—90
Бараны-производители	18—20	10—15	6—8	7—8	5—6	0,6—0,8	40—50	80—90	2—4	80—90	70—80
Валухи	15—18	8—10	7—8	6—7	5—6	0,7—0,8	40—50	70—80	2—3	80—90	70—80
Молодняк	18—20	10—12	7—8	7—8	5—6	0,6—0,8	40—50	70—80	2—4	70—80	80—90
Лошади рабочие	12—15	7—8	6—7	10—12	4—5	0,5—0,6	30—40	60—70	—	60—70	50—60
Конематки жеребые	18—20	10—12	8—10	10—12	5—6	0,7—0,8	50—60	70—80	—	70—80	90—100
Жеребцы	18—20	10—12	7—8	8—10	4—5	0,7—0,8	50—60	70—80	—	70—80	70—80
Молодняк старше года	15—18	8—10	6—8	7—8	4—5	0,6—0,7	40—50	60—80	—	60—70	70—80
Молодняк до года	18—20	10—12	7—8	8—10	4—5	0,7—0,8	50—60	70—80	—	70—80	90—100

¹ По данным Н. Ф. Полякова, Алтайский СХИ.

Таблица 21

Примерные суточные нормы минеральных кормов животным и птицам в граммах на одну голову

Виды животных и птиц	Поваренная соль	Мел	Фосфорно-кальциевая соль (корм. преципитат)	Трикальцийфосфат	Костная мука	Мясокостная мука	Зола древесная	Яичная скорлупа
----------------------	-----------------	-----	---	------------------	--------------	------------------	----------------	-----------------

Таблица 21

Примерные суточные нормы минеральных кормов животным и птицам в граммах на одну голову

Виды животных и птиц	Поваренная соль	Мел	Фосфорно-кальциевая соль (корм. преципитат)	Трикальцийфосфат	Костная мука	Мясо-костная мука	Зола древесная	Яичная скорлупа	
Лошади взрослые	30—50	25—50	10—30	—	20—30	—	—	—	Известняки также применяются в качестве минеральных кормов. Известняки и ракушки не должны содержать более 1—2% примесей песка
Лошади молодняк	15—20	10—20	10—15	—	10—15	10—20	—	—	
Крупный рогатый скот	40—60	60—120	50—40	60—90	30—60	—	60—80	—	
Молодняк крупного рогатого скота	20—30	30—60	15—20	20—45	15—20	—	20—30	—	
Телята до 6 месяцев	5—10	5—10	5—10	5—10	5—10	5—10	5—8	—	
Овцы	10—15	5—10	5—10	5	7—10	—	10—15	—	
Свиньи	30—50	10—40	3—10	10—20	10—15	2—10	10	—	
Гуси	0,5—1	4—12	—	2	2,5—4,5	1	10—15	7	
Утки	0,5—1	5—9	—	2	2—3	2	12—16	8	
Куры	0,5—1	2,5	0,5—1	1,5	2—3	3	7—10	5	
Индейки	0,5—4,5	5,8	—	2,5	2	1	10—15	7	

Атомные веса некоторых элементов
($O=16,0000$)

Таблица 22

Название элемента	Порядковый номер	Символическое обозначение	Атомный вес
Азот	7	N	14,008
Алюминий	13	Al	26,97
Барий	56	Ba	137,36
Бор	5	B	10,82
Водород	1	H	1,0080
Железо	26	Fe	55,85
Йод	53	I	126,92
Калий	19	K	39,096
Кальций	20	Ca	40,08
Кислород	8	O	16,0000
Кобальт	27	Co	58,94
Кремний	14	Si	28,06
Магний	12	Mg	24,32
Марганец	25	Mn	54,93
Медь	29	Cu	63,54
Мышьяк	33	As	74,91
Молибден	42	Mo	95,95
Натрий	11	Na	22,997
Олово	50	Sn	118,70
Ртуть	80	Hg	200,61
Свинец	82	Pb	207,21
Селен	34	Se	78,96
Сера	16	S	32,066
Серебро	47	Ag	107,880
Углерод	6	C	12,010
Фосфор	15	P	30,98
Фтор	9	F	19,00
Хлор	17	Cl	35,457
Хром	24	Cr	52,01
Цинк	30	Zn	65,38

1111 22

141

14,008
 26,97
 7,36
 0,82
 1,0080
 0,85
 6,92
 9,096
 1,08
 ,0000

94
06
32
93
54
01
95
97
0
1
1
6
6
0
0

1

1

БЛАНК 2

РСФСР

Областное управление
сельского хозяйства

**ОБЛАСТНАЯ
ВЕТБАКЛАБОРАТОРИЯ**

Главному ветврачу _____

района товарищу _____

_____ 196__ г.
№ _____

Лаборатория сообщает результаты биохимиче-
ского исследования проб сыворотки крови от _____

_____ коров (свиней) Вашего
совхоза (колхоза), доставленных _____ 196__ г.

№ п/п.	Кличка коровы или инвентарный номер	Содержание, мг %				Общий белок, %	Примечание
		каротина	кальция	фосфора	резервн. щелочи.		
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							

№ п/п.	Кличка коровы или инвентарный номер	Содержание, мг%				Общий белок, %	Примечание
		каротина	кальция	фосфора	резервн. щелочн.		
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							
32							
33							
34							
35							

Примечание. Для коров в норме должно быть каротина в зимнее время примерно от 0,5 мг% и выше, в летнее время—от 1 мг% и выше; кальция от — 11,5 до 12,5 мг%; фосфора—от 6 до 9 мг%; резервная щелочность—от 460 до 500 мг%.

Для свиней: кальция—от 11,5 до 12,5 мг%, фосфора—от 5 до 6 мг %, резервная щелочность—420—520 мг%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Директор лаборатории

Заведующий биохимическим отделом

БЛАНК 3

Омская областная ветеринарно-бактериологическая
лаборатория, гор. Омск Омской области

Кому

Омская областная
ветлаборатория

БЛАНК 3

Омская областная
ветбаклаборатория

ЭКСПЕРТИЗА № _____

химического исследования на: _____

1. Дата поступления материала

_____ " _____ 196__ г.

2. Название хозяйства _____

_____ район _____

3. Что доставлено и в каком виде _____

4. Ход исследования:

а) метод _____

б) начало исследования _____

в) конец исследования _____

г) найдено: _____

Омская областная ветеринарно-бактериологическая
лаборатория, гор. Омск Омской области

Кому _____

Адрес _____

ТАЛОН ЭКСПЕРТИЗЫ № _____

химического исследования на _____

1. Дата поступления материала _____ " _____ 196__ г.

2. Название хозяйства _____

_____ район _____

3. Что доставлено и в каком виде _____

4. Результат исследования

В доставленных пробах при химическом исследовании найдено:

а) каротина _____ мг%, б) витамина А _____ мг %,

в) соли кальция _____ мг%, г) соли фосфора _____

_____ мг%, д) резервная щелочность _____

_____, е) _____

5. Заключение: _____

2. Витамин А

3. Соли кальция

4. Соли фосфора

5. Резервная щелочность

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Ветврач

6. Указания:

Для устранения авитаминозных и полиавитаминозных заболеваний молодняка с.-х. животных и птиц необходимо проверять качественный состав кормов. Животные в последние 2—1,5 месяца беременности должны получать доброкачественные и полноценные корма. Их следует регулярно выводить на прогулку на открытый воздух.

В рационе должны быть наряду с другими кормами сено и силос. Силос скормливается: коровам по 8—10 кг, овцам и свиньям по 1,5—1 кг в сутки на одну голову. Силос необходимо исключать из рациона за 5—7 дней до расплода и в первые 5—7 дней после расплода.

В среднесуточном кормовом рационе для глубокостельных коров, петелек и овец наряду с достаточным количеством других питательных веществ на каждые 100 кг живого веса и в зависимости от предполагаемой молочной продуктивности корм должен содержать 15—20 г поваренной соли, 15—20 г кальция, 10—18 г фосфора и 90—120 мг каротина. Овцам во втором периоде суягности—6—9 г кальция, 3—3, 4, 7 г фосфора и 13 г поваренной соли; свиньям во втором периоде супоросности—5 г кальция, 3,5 г фосфора и 30—40 г поваренной соли.

Поросятам, ягнятам в 3—5 дней жизни скормливать отмученный мел, костную муку, древесный уголь. Поросятам для предупреждения малокровия рекомендуется давать с питьевой водой раствор из 2,5 г сернокислого железа и 1 г сернокислой меди в литре воды, по чайной ложке в сутки. С 10-дневного возраста скормливать красную глину. При недостатке витамина А применять концентрат этого витамина, который вводят внутримышечно телятам по 35—50 тыс. МЕ или 10—15 мг. через 20—30 мин. после рождения один раз в день в течение первых 3 суток, а затем один-два раза через день. При диспепсии концентрат аналогично вводят два раза в день в течение 6—8 дней.

Концентрат витамина А можно скормливать поросятам с молоком 1—2 раза в день.

Концентрат витамина А можно скормливать поросятам, телятам и ягнятам с молоком 1—2 раза в день, а цыплятам с кашей по 0,5—0,7 мг на 1 кг живого веса.

ГЛУБОКО
15 дней в т
в день
потребность
В зимний
ный концент
рам птице
того, овса,
мений, охоты
ные другие
из рек
можно и дру
пасту и дру

Диплом

Глубокостельным коровам при недостатке в кормах витамина А за 15 дней до отела необходимо вводить концентрат витамина А один раз в день в течение 10—15 дней в количестве, покрывающем суточную потребность животного.

В зимнее время поросятам необходимо скармливать витаминизированный рыбий жир из расчета по 0,5 г на 1 кг живого веса в сутки, а курам концентрат витамина А по 1,5—2 г в сутки на 100 голов. Кроме того, птице рекомендуется скармливать проросшее зерно пшеницы, ячменя, овса, пшеничные отруби, сennую муку, красную морковь, молочные отходы, свежее мясо, рыбу, силос и силосный сок.

Из других кормовых средств — источников витаминов для молодняка можно рекомендовать сухой молочно-кислый творог, белково-витаминную пасту и другие.

Директор облветбаклаборатории _____
(подпись)

Зав. отделом, ветврач _____
(подпись)

ЛИТЕРАТУРА

- Аликаев В. А., Оверов А. В., Онегов А. П., Стартов Т. Г. Руководство для практических занятий по зоогигиене сельскохозяйственных животных. М., Сельхозгиз, 1953.
- Аликаев В. А., Петухова Е. А., Халенева Л. Д., Видова Р. Ф. Руководство по контролю качества кормов и полноценности кормления сельскохозяйственных животных. «Колос», 1967.
- Асатгани В. С. Биохимическая фотометрия. Изд. АН СССР, 1957.
- Афонский С. И. Биохимия животных. «Высшая школа», 1960.
- Бабко А. К., Пятницкий И. В. Количественный анализ. «Высшая школа», 1962.
- Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. 2-е изд. Медгиз, 1963.
- «Ветеринарное законодательство». Изд. МСХ СССР, 1959.
- «Ветеринарная лабораторная практика». Сельхозгиз, 1947.
- Дьяков М. И., Голубенцова Ю. В. Минеральное питание сельскохозяйственных животных. Сельхозгиз, 1947.
- Дульнев В. И. Методика результатов лабораторных исследований крови на состояние обмена веществ у животных. «Ветеринария», 1968, № 6.
- Журавлев Е. М. Руководство по зоотехническому анализу кормов. Сельхозиздат, 1963.
- Ионов П. С., Мухин В. Г. и др. Лабораторные исследования в ветеринарной клинической диагностике. Сельхозгиз, 1957.
- Крупский Н. К., Усович А. Т. и др. Методическое пособие по лабораторным и полевым анализам при обследовании почв. Изд. Укр. НИИ почвоведения, Харьков, 1957.
- Крупский Н. К., Казаков А. А., Левенец П. П., Литовченко Н. С., Усович А. Т. Краткое руководство к лабораторным занятиям по агрохимии. Изд. Харьковского сельскохозяйственного института, 1963.
- Крюкова П. А., Синякова С. И., Арефьева Т. В. Полярографический анализ. М., Госхимиздат, 1959.
- Лебедев П. Т. Химический состав кормов, органов и тканей животных и методы рационального кормления. Омск, 1968.
- «Лабораторные методы исследования в ветеринарии». Сельхозгиз, 1957.
- Лукашик Н. А., Тацилин В. А. Зоотехнический анализ кормов. «Колос», 1965.

Марков А.
дования. М.
«Методическ
«Методы ми
Немкова
тиям по
Ойвин И.
следова
1960, №
Орлов П.
«Ветерин
Петербург
гиз, 196
«Руководств
Урбах В.

- Марков А. Н. Общая теория и методика санитарно-статистического исследования. М., Медгиз, 1959.
- «Методическое руководство по определению витаминов». Медгиз, 1960.
- «Методы минерального анализа». М., 1955.
- Немкова О. Т., Бурова Е. И. и др. Руководство к практическим занятиям по неорганической химии. Изд. МГУ, 1959.
- Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. «Патологическая физиология и экспериментальная терапия», 1960, № 4.
- Орлов П. Т. Статистико-математические методы анализа в ветеринарии. «Ветеринария», 1968, № 9, стр. 68—73.
- Петербургский А. В. Практикум по агрохимической химии. Сельхозгиз, 1963.
- «Руководство по клиническим лабораторным исследованиям». Медгиз, 1960.
- Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. М., 1963.

СОДЕРЖАНИЕ

ОБОРУДОВАНИЕ ЛАБОРАТОРИИ	7
Помещения	10
Лабораторное оборудование и посуда	12
Весы и взвешивание	24
Порядок работы в лаборатории	36
РАСТВОРЫ И ИХ ПРИГОТОВЛЕНИЕ	39
Классификация растворов	40
Техника приготовления растворов	43
Приготовление приближенных растворов различных концентраций	46
Приготовление титрованных растворов	57
Установление титра растворов	59
Расчеты и приготовление стандартных растворов	64
Надписи на склянках	65
Кислотно-щелочные индикаторы	67
НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	72
Колориметрический метод анализа	74
Универсальный фотометр ФМ-56	79
Фотоколориметрический метод анализа	85
Электрометрическое определение концентрации водородных ионов (рН)	93
Лабораторный рН-метр ЛПУ-01	99
Пламенная фотометрия	100
Полярографический метод анализа	111
Электрофоретическое определение фракций белков в сыворотке крови животных	139
ЗООГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОРМОВ	149
Отбор средних проб	149
Оценка доброкачественности сена	150
Оценка качества корнеклубнеплодов	153
Оценка зерновых и мучнистых кормов	154
Оценка качества жмыхов и шротов	159
Хранение, консервирование проб кормов и их измельчение	160
Методы определения доброкачественности силоса	162

ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРМОВ 170

Определение первоначальной или натуральной влажности	170
Определение гигроскопической влажности	170
Озоление и определение золы	171
Определение «сырого» жира	173
Определение безазотистых экстрактивных веществ	173
Определение углеводно-лигнинного комплекса	174
Определение сахара в корнеплодах рефрактометрическим методом	178
Определение крахмала (осахаривание диастазой)	179
Определение крахмала в картофеле по удельному весу	181
Определение лигнина и целлюлозы	181
Определение «сырой» клетчатки (по Геннебергу и Штоману)	183
Определение «сырого» протеина и азота	184
Определение общего азота в кормах, органах и тканях животных фотоколориметрическим методом (по А. Т. Усовичу)	188
Определение общего азота полумикрометодом Кьельдаля с применением прибора Парнаса-Вагнера	190
Подготовка пробы для определения фосфора, кальция, магния и хлора	195
Определение фосфора колориметрическим методом	196
Определение фосфора фотоколориметрическим методом (методика Левицкого в модификации А. Т. Усовича)	197
Определение фосфора в кормах, органах и тканях животных фотоколориметрическим методом (по А. Т. Усовичу)	199
Определение кальция объемным методом	201
Определение фосфора, кальция и магния в костях (метод сухого озоления)	202
Определение магния объемным методом	203
Определение хлора (по методу Фольгарда)	204
Определение магния фотоколориметрическим методом с помощью титанового желтого	205
Определение серы (по Бенедикту-Денису)	207
Определение железа в кормах, органах, тканях и сыворотке крови животных фотоколориметрическим методом (по А. Т. Усовичу)	208
Определение микроэлементов в кормах, органах и тканях животных	211
Приготовление шкал из цветных растворов минеральных солей	211
Количественное определение меди по стандартной шкале	215
Приготовление реактивов для определения меди дитизином	215
Количественное определение цинка по стандартной шкале	216
Приготовление реактивов для определения цинка	216
Количественное определение марганца по стандартной шкале	217
Количественное определение кобальта по стандартной шкале	217
Количественное определение молибдена по стандартной шкале	218
Количественное определение бора по стандартной шкале	219
Определение микроэлементов в кормах, органах и тканях животных	220
Полярографическое определение меди, цинка и марганца в кормах, органах и тканях животных (по А. Т. Усовичу)	224
Определение кобальта в кормах, органах и тканях животных полярографическим методом (по А. Т. Усовичу)	230
Полярографическое определение железа в кормах, органах и тканях животных (по А. Т. Усовичу)	232
Определение каротина в сене и других растительных кормах	234
Производственный метод определения каротина в сене (по Нестеровой)	236
Визуальный метод определения витамина В ₁ в кормах	239
Определение витамина С	241
Определение витамина Е	244

ВОДА И ЕЕ АНАЛИЗ	248
Отбор проб воды для анализа	249
Физические исследования	249
Качественное испытание воды	252
Количественный анализ воды	254
Методы санитарно-бактериологического исследования воды	269
БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ	283
Определение кислотно-щелочного равновесия в организме	283
Газометрическое определение щелочного резерва плазмы крови (по Ван-Слайку)	285
Определение щелочного резерва крови (по Неводову)	289
Методика определения щелочного резерва крови (по Неводову), видоизмененная П. Т. Лебедевым и П. В. Ковалевой (СибНИВИ)	290
Методика определения щелочного резерва сыворотки крови	291
Определение гемоглобина в крови животных	291
Определение белка и его фракций в сыворотке крови рефрактометрическим методом	295
Количественное определение нуклеиновых кислот в крови	299
Определение каротина в сыворотке крови	300
Определение витамина А в органах и сыворотке крови	302
Определение витамина С и неорганического фосфора плазмы крови в одной пробирке	306
Определение витамина С в органах	308
Определение витамина Е химическим методом	312
Определение витамина Е при помощи фотометра	313
Химический метод определения витамина В ₂ (рибофлавина) С ₁₇ H ₂₀ O ₆ N ₄ в органах и тканях	315
Определение витамина В ₁₂ в органах и тканях	317
Определение витамина D в рыбьем жире (по И. Н. Гаркиной и В. Н. Букину)	322
Определение никотиновой кислоты	326
Определение сахара в крови (способ Хагедорна и Иенсена)	330
Определение кальция в сыворотке крови, по Де-Ваарду	334
Комплексометрическое определение кальция и магния с трилоном Б методом обратного титрования (в модификации А. Ф. Арсеньева)	335
Определение фосфора в сыворотке крови колориметрическим методом, по Бригсу с изменениями В. Я. Юделовича	342
Фотоколориметрическое определение фосфора в сыворотке крови животных, по Бригсу в модификации А. Т. Усовича	343
Методика определения калия в сыворотке крови (по Крамеру и Тисдалю)	345
Методика колориметрического определения калия в сыворотке крови, других тканях и органических веществах, модифицированная С. И. Вишняковым	347
Определение натрия и калия в сыворотке крови животных методом пламенной фотометрии (по А. Т. Усовичу)	348
Определение железа в сыворотке крови фотометрическим методом	352
Определение микроколичеств селена в биологических материалах	352
ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЛОКА	357
Взятие и хранение проб молока	357
Определение плотности молока	358
Определение кислотности молока	358
Определение жира в молоке	359
Определение общего количества белка в молоке	359

Определение казеина	360
Определение сахара в молоке	361
Определение сухого вещества в молоке	363
Определение минерального состава в молоке	364
Определение кальция и фосфора в молоке	364
Определение хлора в молоке	366
Определение витамина С в молоке	366
Определение кетоновых тел в молоке	367
Определение титруемой кислотности свежесвыдоенного молока (по А. А. Кабышу)	367
Определение каротина в молоке (по Слесаревой)	368
ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЧИ	370
Определение реакции мочи	370
Определение удельного веса мочи	371
Определение общего количества азота в моче (по Кьельдалю)	371
Качественное определение белка и кетоновых тел в моче	372
Определение ацетоновых тел	373
Экспресс-метод определения ацетона в моче	374
Экспресс-метод полуколичественного определения сахара в моче	375
Определение аскорбиновой кислоты (витамина С) в моче	376
Определение вакат-кислорода в моче	377
Определение хлора в моче	378
Определение кальция в моче	378
Определение фосфорной кислоты в моче	380
Определение неорганического фосфора в моче	381
ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ СТАТИСТИКИ ПРИ ОБРАБОТКЕ ОПЫТНЫХ ДАННЫХ	382
ПРИЛОЖЕНИЕ	419
Примерный перечень оборудования и реактивов	419
Таблица 1. Зависимость веса и объема воды от температуры	422
Таблица 2. Поправка на температуру в миллилитрах на 1 л воды или водных растворов	422
Таблица 3. Удельные веса водных растворов кислот	423
Таблица 4. Удельные веса водных растворов щелочей	426
Таблица 5. Удельный вес и концентрация этилового спирта	427
Таблица 6. Определение крахмала и сухого вещества в картофеле по удельному весу	428
Таблица 7. Содержание макроэлементов в кормах и добавках различных зон Омской области, по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ в 1963—1966 гг. (средние показатели)	430
Таблица 8. Содержание микроэлементов в кормах и добавках различных зон Омской области, по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ в 1963—1966 гг.	434
Таблица 9. Содержание незаменимых аминокислот в 100 г протеина кормов	438
Таблица 10. Содержание витамина D в кормах и препаратах, УЕ	441
Таблица 11. Содержание витамина Е в кормах (по Балдиссера-Нардио)	442
Таблица 12. Содержание рибофлавина и никотиновой кислоты в кормах, мг/кг	443
Таблица 13. Содержание аскорбиновой кислоты в кормах, мг/кг	444
Таблица 14. Химический состав молока коров хозяйств различных зон Омской области в различные периоды года	445
Таблица 15. Показатели качественной оценки силоса урожая 1967 г., по данным исследований ветеринарных лабораторий Урала, Сибири и Дальнего Востока	446
Таблица 16. Биохимические показатели сыворотки крови животных и птиц, убитых в сентябре и октябре 1966 г. на Омском и Тарском мясокомбинатах, по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ	448
	475

Таблица 17. Биохимические показатели органов сельскохозяйственных животных, птицы и пушных зверей (в среднем), по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ	449
Таблица 18. Биохимические показатели скорлупы, белка и желтка куриных яиц (по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ)	458
Таблица 19. Биохимические показатели скорлупы, белка и желтка утиных и гусиных яиц (по данным исследований лаборатории зоогигиены СибНИВИ)	459
Таблица 20. Примерные суточные нормы макро- и микроэлементов для сельскохозяйственных животных из расчета на 100 кг веса, рекомендуемые СибНИВИ	460
Таблица 21. Примерные суточные нормы минеральных кормов животным и птицам в граммах на одну голову	461
Таблица 22. Атомные веса некоторых элементов	462
Бланки и талоны экспертизы о результатах химического исследования	463
Литература	470

*Петр Тимофеевич Лебедев
Александр Тарасович Усович*

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КОРМОВ,
ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ**

Редакторы *А. Е. Феферман, Е. М. Ривелис, Н. Л. Тараненко*
Технический редактор *Л. Г. Левина*
Корректор *И. К. Фингерит*

Л37725 Сдано в набор 8/IV 1969 г. Подп. в печать 15/X 1969 г. Объем
29,75 усл. печ. л. 32,6 уч.-изд. л. Формат 60×90¹/₁₆. Тираж 14200 Изд. № 674
Заказ 55 Цена 1 р. 08 к. Отпечатано на тип. бум. № 2

Объявлено в т. п. 1969 г. № 30

Россельхозиздат, г. Москва, И-139, Орликов, За.

Калужская областная типография управления по печати облисполкома,
пл. Ленина, 5.

Стр.	Строка	
60	1-я снизу	$K_1 =$
74	3-я сверху	$J_1 = J$
84	23-я сверху	125% -
349	25-я сверху 2-я сверху	60 де
400	5-я снизу	$x_1 =$
410	4-я снизу	(с. 1)

Замеченные опечатки

Стр.	Строка	Напечатано	Следует читать
60	1-я снизу	$K_{0,5 \text{ н HCl}} =$	$K_{0,05 \text{ н HCl}} =$
74	3-я сверху	$J_t = J_0 \cdot 10_{\text{сcl}}$	$J_t = J_0 \cdot 10^{\text{сcl}}$
84	23-я сверху	125%-ный раствор H_2SO_4	1,25%-ный раствор H_2SO_4
349	25-я сверху 28-я сверху	60 делений	50 делений
400	5-я снизу	$x_1 = \frac{x_{\text{выск}} - M}{S}$	$\alpha_1 = \frac{x_{\text{выск}} - M}{S}$
400	4-я снизу	(стр. 417)	(стр. 418)

Зак. 55.

Тараканко

5. IX 1969 г. О. Баск
14200 П. М. № 67
м. № 2

За.
обл. сп. лж. м.



МЕЖДУНАРОДНЫЙ
ГОД КНИГИ



1972 ГОД

А. Волков.
«Волшебник
Изумрудного
города».
Художник
Л. Владимирский.
Москва. Издательство
«Советская Россия».

Цена 3 коп.
12 листов

ГОСУДАРСТВЕННЫЕ ГИМНЫ
Совия Советского Союза и союзных

Текст С. Михалкова и
Г. Эль-Регистана

Музыка А. В. Александрова

Гурал. галлел
2 мая 216-28-03

Менеева О. I

Ольга Вилла. 489-39-39

А. Волков.
«Волшебник
Изумрудного
города».
Художник
Л. Владимирский.
Москва. Издательство
«Советская Россия».

THE END OF THE WORLD
— 1900 —







THE WALKING DEAD
NEW EPISODE TONIGHT 9/8c

amc



**ВСЕГДА
не верьте
тому что
кажется,
верьте
ТОЛЬКО
доказательствам.**



Чарльз Диккенс. «Большие надежды» 1861 г.